

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI
TESTIS IKAN OPUDI (*Telmatherina celebensis*)
DI DANAU MATANO LUWU TIMUR SULAWESI SELATAN
YANG TERCEMAR LOGAM BERAT NIKEL (Ni) DAN BESI (Fe)**

SKRIPSI

**UMIKALSUM YAKUB
011 11 283**



**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2015**

**GAMBARAN HISTOPATOLOGI
TESTIS IKAN OPUDI (*Telmatherina celebensis*)
DI DANAU MATANO LUWU TIMUR SULAWESI SELATAN
YANG TERCEMAR LOGAM BERAT NIKEL (Ni) DAN BESI (Fe)**

UMIKALSUM YAKUB

Skripsi :
Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan pada
Program Studi Kedokteran Hewan
Fakultas Kedokteran

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2015**

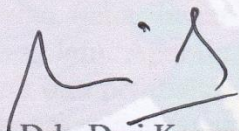
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Skripsi : Gambaran Histopatologi Testis Ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe)
Nama : Umikalsum Yakub
NIM : 0111 11 283

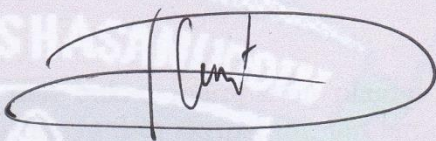
Disetujui Oleh,

Pembimbing Utama

Pembimbing Anggota



Dr. Drh. Dwi Kesuma Sari
NIP. 19730216 199903 2 001





drh. Alimansyah Putra

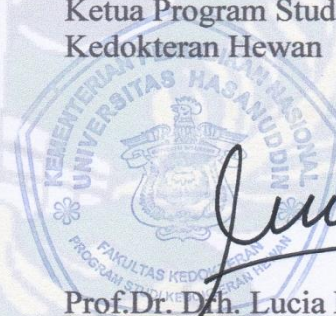
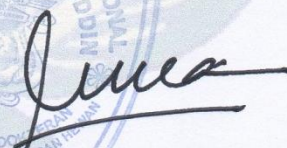
Diketahui Oleh,

Dekan
Fakultas Kedokteran

Ketua Program Studi
Kedokteran Hewan



Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp. Bs
NIP. 19551019 198203 1 001



Prof. Dr. Dfh. Lucia Muslimin M.Sc
NIP. 19480307 197411 2 001

Tanggal lulus : 25 November 2015

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Umikalsum Yakub
NIM : O111 11 283
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Kedokteran Hewan

Dengan ini menyatakan bahwa Skripsi yang saya susun dengan judul :

Gambaran Histopatologi Testis Ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe)

adalah benar-benar hasil karya saya dan bukan merupakan plagiat dari skripsi orang lain. Apabila sebagian atau seluruhnya dari skripsi ini, terutama dalam bab hasil dan pembahasan, tidak asli atau plagiasi, maka saya bersedia dibatalkan dan dikenakan sanksi akademik yang berlaku.

Demikian pernyataan keaslian ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Makassar, 25 November 2015
Pembuat pernyataan,

Umikalsum Yakub

ABSTRAK

UMIKALSUM YAKUB. **Gambaran Histopatologi Testis Ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe).** Di bawah bimbingan DR. DRH. DWI KESUMA SARI dan DRH. ALIMANSYAH PUTRA.

Ikan opudi (*Telmatherina celebensis*) merupakan ikan endemik di Danau Matano. Danau Matano ini berada di kawasan pertambangan industri nikel. Salah satu limbah industri yang mengancam organisme air ialah logam berat. Logam berat dapat menimbulkan kerusakan pada berbagai organ termasuk organ reproduksi (testis). Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui gambaran histopatologi testis ikan opudi (*Telmatherina celebensis*). Sampel yang digunakan sebanyak 6 ekor ikan opudi dengan ukuran kurang lebih 75-95 mm. Preparat histopatologi organ dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Haematoxylin-Eosin. Selain pembuatan preparat histopatologi organ, juga dilakukan pengukuran terhadap kadar logam yang terkandung dalam perairan Danau Matano. Analisa data yang digunakan adalah analisis data deskriptif kualitatif. Dari hasil penelitian ini diperoleh bahwa ikan yang tertangkap hanya mencapai TKG II. Pada hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan adanya kerusakan berupa dilatasi intertubulus, lumen tubulus tidak beraturan, hemoraghi, infiltrasi sel radang, adanya sel nekrosis dan kerusakan sel leydig. Dari hasil pengukuran kadar logam di danau tersebut mengandung nikel sebanyak <0.0184 mg/L, besi sebanyak 0.0238 mg/L, seng sebanyak 0.0491 mg/L dan tembaga sebanyak <0,0136 mg/L yang rata-rata menghampiri batas maksimum. Oleh karena itu, terjadinya abnormalitas pada jaringan organ testis ikan opudi diduga memiliki hubungan dengan adanya cemaran logam berat pada Danau Matano.

Kata kunci : ikan opudi, reproduksi, gonad, testis, histopatologi

ABSTRACT

UMIKALSUM YAKUB. **Histopathology Pictures of Testis Opudi Fish (*Telmatherina celebensis*) in Matano Lake East Luwu South Sulawesi Contaminated Heavy Metals Nickel (Ni) and Iron (Fe).** Under the supervisor DR. DRH. DWI KESUMA SARI dan DRH. ALIMANSYAH PUTRA.

Opudi fish (*Telmatherina celebensis*) is an endemic fish in Matano Lake. Matano Lake is located in the mining area of the nickel industry. One of the industrial waste that threatens aquatic organisms is heavy metal. This heavy metal can cause damage to various organs, including reproductive organs (testis). The purpose of this research to describe the histopathology pictures of testis opudi fish (*Telmatherina celebensis*). The amount of fish examined are six with a site range from 75 mm to 95 mm. Histopathology prepare organ created with the paraffin method and Haematoxylin-Eosin staining. In addition, we also measured heavy metals concentration in Matano Lake. Analysis of the data used is qualitative descriptive. From the results of this study showed that the fish were caught just reached TKG II. On the results of microscopic observations indicate the damage of intertubular dilatation, irregular tubular lumen, haemorrhagic, infiltration of inflammatory cells, the cell necrosis and Leydig cell damage. From the results of measurements the metals levels of the lake contain nickel as <0.0184 mg / L, iron as much as 0.0238 mg / L, zinc as much as 0.0491 mg / L and copper as <0.0136 mg / L and average are nearly the maximum limit. Therefore, the occurrence of abnormalities in the testis tissue of opudi fish suspected of having links with the presence of heavy metal contamination in Matano Lake.

Keywords: Opudi fish, reproduction, gonads, testis, histopathology

KATA PENGANTAR



Assalamu'alaikum warahmatullahi wabarakatuh

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT, Sang pencipta langit dan bumi serta segala isinya yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, serta kasih sayang-Nya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“Gambaran Histopatologi Testis Ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe)”**.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat dalam menempuh ujian Sarjana Kedokteran Hewan. Penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan dan masih jauh dari kesempurnaan, hal ini dikarenakan keterbatasan kemampuan yang penulis miliki. Namun adanya doa, restu dan dorongan dari orang tua yang tak pernah putus menjadikan penulis bersemangat untuk melanjutkan penulisan skripsi ini. Untuk itu dengan segala bakti penulis memberikan penghargaan setinggi-tinggi dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada mereka, **Ayahanda Yakub SH , Ibunda Minah SE, Kakanda Eka Maya Sari, S.KM dan Adinda Nahdah Fauziyyah Yakub**.

Atas segala kekurangan dan ketidaksempurnaan skripsi ini, penulis sangat mengharapkan masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun kearah perbaikan dan penyempurnaan skripsi ini. Cukup banyak kesulitan yang penulis temui dalam penulisan skripsi ini, tetapi Alhamdulillah dapat penulis atasi dan selesaikan dengan baik.

Melalui kesempatan ini pula, penulis menghaturkan terima kasih kepada semua pihak yang telah banyak berjasa dalam memberikan bantuan, semangat, serta do'a yang tulus, teristimewa kepada :

1. Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A. selaku Rektor Universitas Hasanuddin Makassar
2. Prof. Dr. dr. Andi Asadul Islam, Sp.BS selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin Makassar
3. Prof. Dr. drh. Lucia Muslimin, M.Sc. selaku Ketua Program Studi Kedokteran Hewan yang telah membantu penulis dalam memberikan arahan dan bimbingan selama menempuh perkuliahan di Kedokteran Hewan
4. Dr. drh. Dwi Kesuma Sari selaku pembimbing I dan drh. Alimansyah Putra selaku pembimbing II yang tak pernah lelah membimbing dan senantiasa memberikan arahan, kritikan, saran dan masukan yang sangat membangun.
5. Dr. Ir. Irma Andriani dan drh. Dedi Irawan Supriyanto selaku dewan penguji yang telah memberikan kritikan, saran dan masukannya.
6. Seluruh Dosen/Staff Pengajar di Program Studi Kedokteran Hewan yang telah banyak membekali penulis dengan ilmu pengetahuan, dan lain-lain.
7. Seluruh keluarga besarku yang selalu memberikan doa dan semangat kepada penulis dalam meyelesaikan pendidikannya.

8. Teman-teman yang membantu saya saat penelitian, Asnelly Asri, S.KH, Nurul Sulfi Andini, S.KH, Aini Rahmayani, S.KH, Muhammad Abdi Awal, Muhammad Reza Basri dan Nasrullah.
9. Orang yang sudah seperti kakak bagi saya, kak Deya dan kak Pike' yang selalu memberikan semangat
10. Sahabat-sahabat saya Bahenil Tim, Cantika Tim, JCC Tim dan GH Tim yang selalu menghibur saya disaat saya sudah sangat lelah dan selalu mengukir senyuman di bibir saya.
11. Serta semua pihak yang tak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan semoga amal baik yang telah diberikan kepada penulis mendapat balasan dari Allah SWT.

Makassar, November 2015

Penulis,

Umikalsum Yakub

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN KEASLIAN	iv
ABSTRAK	v
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	2
1.3. Tujuan Penelitian	2
1.4. Manfaat Penelitian	2
1.5. Hipotesis Penelitian	2
1.6. Keaslian Penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Danau Matano	3
2.2. Ikan Opudi (<i>Telmatherina celebensis</i>)	3
2.3. Reproduksi Ikan	4
2.3.1. Testis	5
2.3.2. Tingkat Kematangan Gonad (TKG)	12
2.3.3. Indeks Kematangan Gonad (IKG)	13
2.4. Perubahan Histopatologi	14
3. METODE PENELITIAN	17
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	17
3.2. Jenis Penelitian dan Metode Pengambilan Sampel	17
3.3. Materi Penelitian	17
3.4. Prosedur Penelitian	17
3.4.1. Pengambilan Sampel	17
3.4.2. Pembuatan Sediaan Histologi	17
3.4.3. Pengukuran Kadar Logam	18
3.4.4. Pengamatan Mikroskopik	18
3.5. Analisis Data	18
3.6. Alur Penelitian	19
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1. Morfometrik Sampel Ikan Opudi	20
4.2. Pengamatan Makroskopik	20
4.3. Pengamatan Mikroskopik	21
5. PENUTUP	27
5.1. Kesimpulan	27
5.2. Saran	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN	32
RIWAYAT HIDUP	

DAFTAR TABEL

1. Tahap Perkembangan Gonad Ikan Bungo	5
2. Daftar Morfometrik Sampel Ikan Opudi	20
3. Hasil Uji Air Danau Malili	25

DAFTAR GAMBAR

1. Ikan Opudi	4
2. Gonad dan Jaringan Gonad Ikan Bungo (<i>G. giuris</i>) Jantan	6
3. Skema Dua Jenis Testis Lobular pada Teleostei	7
4. Skema Tipe-Tipe Testis Tubular	8
5. Histologi Testis Ikan Lemuru	9
6. Gambar Histologi Testis Ikan	10
7. Histologi Testis Ikan Bete	11
8. Distribusi Tingkat kematangan Gonad <i>Telmatherina celebensis</i> Jantan	12
9. Distribusi Tingkat kematangan Gonad <i>Telmatherina celebensis</i> Betina	13
10. Indeks Kematangan gonad <i>T.celebensis</i> Jantan	14
11. Indeks Kematangan gonad <i>T.celebensis</i> Betina	14
12. Gonad Struktur Histologis Sinar Tutul Biru (<i>Dasyatis kuhlii</i>)	15
13. Hasil Nekropsi Ikan Opudi	21
14. Testis Ikan Opudi Pembesaran 10x10	22
15. Histologi Testis Ikan Opudi Pembesaran 40x10	22
16. Testis Ikan Opudi Pembesaran 10x10 dan 40x10	23
17. Gambar Histopatologi Testis Ikan Opudi Pembesaran 40x10	24
18. Potongan Melintang Testis Ikan Opudi Pembesaran 40x10	24

DAFTAR LAMPIRAN

1. Histoteknik	33
2. Hasil Pemeriksaan Air Danau	39
3. Peraturan Pemerintah Republik Indonesia	40
4. Dokumentasi	42

1. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Ikan *Telmatherina celebensis* (nama lokal : opudi) termasuk kelas Actinopterygii, ordo : Atheriniformis dan famili: Telmatherinidae (Nelson, 1994), termasuk salah satu ikan hias yang diperdagangkan baik dalam negeri maupun luar negeri. Nama dagang ikan tersebut adalah *Celebes Rainbow Fish* atau *Celebes Sail Fish* (Nasution, 2004). *Rainbow Celebensis* memiliki warna tubuh yang indah, terutama pada ikan jantan. Tubuhnya berwarna kuning kecoklatan di bagian atas dan terdapat tiga atau lebih pita vertikal yang terlihat lebih kontras dibandingkan ikan betina. Ikan ini merupakan ikan endemik di Danau Matano.

Danau Matano terletak di Kabupaten Luwu Timur Sulawesi Selatan dengan kedalaman 590 m, berada 280 m di bawah permukaan laut dengan panjang 31 km, lebar 6,5 km dan luas sebesar 164 km², termasuk tipe danau oligotrop berada dalam kawasan kompleks industri nikel (INCO) Malili (Hamal, 2006). Adanya industri nikel disekitar danau ini tentu berpotensi menimbulkan kerusakan lingkungan akibat adanya cemaran limbah industri kedalam danau. Pencemaran limbah industri tentu dapat mengganggu kondisi ekosistem termasuk ikan-ikan yang hidup endemik di danau tersebut.

Salah satu limbah industri yang mengancam organisme air yaitu logam berat. Senyawa logam bisa masuk dengan sangat mudah dan cepat dalam tubuh dan dapat terakumulasi dalam jaringan tubuh organisme air. Hal ini juga dapat menjadi racun bagi manusia jika mengkonsumsi ikan seperti ini. Proses akumulasi logam dalam jaringan terjadi setelah penyerapan logam dari air atau melalui pakan yang terkontaminasi. Logam diserap oleh darah, mengikat protein darah yang kemudian didistribusikan ke seluruh jaringan tubuh (Palar, 1994).

Toksikitas logam berat dapat mempengaruhi proses reproduksi salah satunya yaitu menyebabkan kerusakan epitel germinal (Darmono, 1995). Gangguan pada sistem reproduksi dapat diamati melalui gonad ikan jantan. Gonad merupakan organ reproduksi pada ikan, jika gonad mengalami gangguan karena pencemar maka akan mengganggu proses reproduksi bahkan dapat menurunkan produksi ikan opudi. Melihat bahaya yang bisa ditimbulkan, perlu dikaji lebih mendalam kerusakan-kerusakan organ reproduksi untuk mendapatkan gambaran yang lebih jelas. Analisa histopatologi dapat menjadi parameter yang sangat sensitif dan menjadi sangat penting didalam menentukan perubahan struktur sel yang terjadi di organ dalam seperti ginjal, hati dan gonad (Khaisar, 2006). Selain itu, kita dapat mengetahui jika terjadi penyakit atau kelainan pada tubuh individu tersebut. Dengan adanya gambaran histopatologi kita juga dapat melihat secara jelas kerusakan – kerusakan apa saja yang terjadi di dalam tubuh suatu individu sehingga dapat dikaitkan dengan kondisi lingkungan yang kemungkinan bisa menjadi faktor penyebab terjadinya kerusakan tersebut.

Penelitian terhadap ikan ini belum banyak dilakukan terutama mengenai gambaran mikro sistem reproduksinya belum pernah diteliti. Metode umum yang digunakan yaitu bedah bangkai (*nekropsis*). Pada penelitian ini pengamatan dilakukan pada studi mikroskopis melalui pembuatan preparat histopatologi menggunakan sampel yang terdiri atas testis ikan opudi.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan maka dapat diambil rumusan masalah sebagai berikut:

- 1.2.1. Bagaimanakah gambaran histopatologi testis ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano yang tercemar logam berat?
- 1.2.2. Apakah dalam perairan Danau Matano terdapat kandungan logam berat?

1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang telah dipaparkan maka tujuan penelitian ini, yaitu:

Tujuan Umum

- 1.3.1. Mengetahui perubahan histopatologi pada organ ikan opudi (*Telmatherina celebensis*).
- 1.3.2. Mengetahui jenis-jenis kandungan logam berat di perairan Danau Matano.

Tujuan Khusus

- 1.3.3. Mengetahui gambaran histopatologi testis ikan opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano yang tercemar logam berat.

1.4. Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini terbagi menjadi manfaat pengembangan teori dan aplikatif :

- 1.4.1. Manfaat Pengembangan Ilmu Teori
Menambah literatur mengenai ikan opudi yang merupakan salah satu hewan endemik Sulawesi Selatan.
- 1.4.2. Manfaat untuk Aplikasi
Sebagai rujukan untuk penelitian selanjutnya mengenai spesies-spesies yang terkait dengan hewan tersebut.

1.5. Hipotesis Penelitian

Gambaran histopatologi testis ikan opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan dipengaruhi oleh adanya dugaan cemaran logam berat.

1.6. Keaslian Penelitian

Penelitian terhadap ikan ini belum banyak dilakukan, kecuali taksonomi (Kottelat *et al.*, 1993), beberapa catatan tentang distribusi (Wirjoatmodjo *et al.*, 2003; Sulistiono *et al.*, 2005; Rahardjo, 2005), reproduksi secara umum (Nasution, 2004; Jayadi *et al.*, 2010), serta kebiasaan makan (Sulistiono *et al.*, 2006; Furkon, 2003). Namun penelitian untuk gambaran histologi maupun histopatologi testis ikan opudi belum pernah dilakukan.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Danau Matano

Danau memegang peran penting dalam penyediaan air bersih yang berguna sebagai bahan dasar air minum, pertanian, industri, rekreasi dan pariwisata (Giardino, et al. 2001). Danau Matano adalah danau air tawar yang merupakan sumber daya utama di wilayah tersebut dan juga tuan rumah yang unik dari beragam ekosistem perairan (Von Rintelen dan Glaubrecht 2003; Roy *et al.* 2004; Herder *et al.* 2006).

Danau Matano adalah satu dari lima danau di wilayah Propinsi Sulawesi Selatan yang dikenal dengan nama Malili Lakes. Ke lima danau ini membentuk suatu sistem yang sebagian terpisah satu sama lain akan tetapi sama sekali terpisah dari perairan lainnya, sedangkan ke empat danau lainnya adalah Mahalona, Towuti, Wawontoa dan Masapi. Danau Matano terletak 382 m dari permukaan laut, panjangnya sekitar 31 km dan lebar 6,5 km, luas mencapai sekitar 164 km², sedangkan kedalamannya mencapai 590 m (Hadiaty dan Wirjoatmodjo, 2002).

Danau Matano mempunyai tingkat kecerahan yang tinggi. Hal ini ditandai dengan nilai kedalaman Secchi yang dalam yaitu 25 m. Secchi merupakan alat yang digunakan untuk mengukur tingkat kecerahan perairan. Dengan tingkat kecerahan yang tinggi ini membuat danau ini mempunyai luas kolom untuk proses fotosintesis sangat tebal (Nomosatryo *et al.*, 2013).

Nilai pH di Danau Matano relatif bersifat normal, walaupun di permukaan sedikit lebih alkalin tetapi berdasarkan kedalaman nilai pH akan menurun. Nilai sedikit alkalin di Danau Matano (8,50-8,02) berada di kedalaman 0-80 m, sedangkan dari kedalaman 150 m – dasar nilai pH relatif konstan yaitu 7,06. Pola distribusi konsentrasi Oksigen Terlarut (DO) di Danau Matano menunjukkan pola profil Clinograde. Oksiklin (Penurunan yang tajam konsentrasi DO) di Danau Matano ditemukan di kedalaman 95-100 m. Konsentrasi Oksigen Terlarut (DO) di Danau Matano yang masih bersifat aerobik (Masih tersedia Oksigen Terlarut) ditemukan sampai kedalaman 95 m sedangkan keadaan yang benar-benar anaerobik (tidak ada Oksigen Terlarut) dimulai dari kedalaman 100 m sampai dasar (Nomosatryo *et al.*, 2013).

Profil suhu di permukaan Danau Matano relatif lebih hangat bila dibandingkan dengan suhu di bagian dasar. Suhu di Danau Matano dari permukaan sampai kedalaman 95 m berkisar antara 29,62-27,05°C, sedangkan pada kedalaman 200 m sampai dasar terlihat stabil yaitu 25,57°C (Nomosatryo *et al.*, 2013).

2.2. Ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*)

Ikan *Telmatherina celebensis* (nama lokal : opudi) termasuk kelas Actinopterygii, ordo : Atheriniformis dan famili : Telmatherinidae (Nelson, 1994), termasuk salah satu ikan hias yang diperdagangkan baik dalam negeri maupu luar negeri. Nama dagang ikan ini adalah Celebes Rainbow Fish atau Celebes Sail Fish (Nasution, 2004). Ikan ini merupakan ikan endemik di Danau Towuti, Danau Matano dan Danau Mahalona (Wargasasmita, 2000), sehingga rentan akan kepunahan karena penyebarannya terbatas.

Klasifikasi dan identifikasi ikan opudi (*Telmatherina celebensis*) menurut Kottelat *et. al.*, (1993) adalah sebagai berikut :

Kingdom : Animalia
Phylum : Chordata
Sub Phylum : Vertebrata
Grade : Pisces
Kelas : Osteichthyes
Sub Kelas : Actinopterygii
Infraclass : Neopterygii
Divisi : Halecostomi
Subdivisi : Teleostei
Infradivisi : Eutelestoi
Super ordo : Acanthopterygii
Ordo : Atheriniformes
Family : Telmatherinidae
Genus : *Telmatherina*
Species : *Telmatherina celebensis*

Nama Umum (Inggris) : Rainbow Fish

Nama Lokal : Ikan opudi



Gambar 1. Ikan Opudi

Ikan yang termasuk ke dalam ordo Atheriniformes biasanya mempunyai dua sirip dorsal, sirip yang pertama jika ada merupakan sirip yang fleksibel. Sirip anal biasanya dilengkapi dengan duri, garis sisi tidak ada atau terlihat samar. Ikan opudi memiliki bentuk badan yang Cyprinoid, dengan jumlah baris sisik melintang badan $\frac{1}{2}$ 8 $\frac{1}{2}$ (satu baris sisik tepat di depan sirip punggung, delapan baris sisik melintang badan dan satu baris sisik tepat di depan sirip anal). Bagian belakang sirip dubur dan sirip punggung kedua membulat, 11 - 14 sisik di depan sirip punggung, 31 – 34 deret sisik sepanjang lateral. Sirip punggung mempunyai duri sederhana dan pada umumnya memiliki perbedaan warna antara jantan dan betina (Furkon, 2003).

2.3. Reproduksi Ikan

Fungsi reproduksi pada ikan pada dasarnya merupakan bagian dari sistem reproduksi yang terdiri dari komponen kelenjar kelamin atau gonad, dimana pada ikan betina disebut ovarium sedang pada jantan disebut testis beserta salurannya.

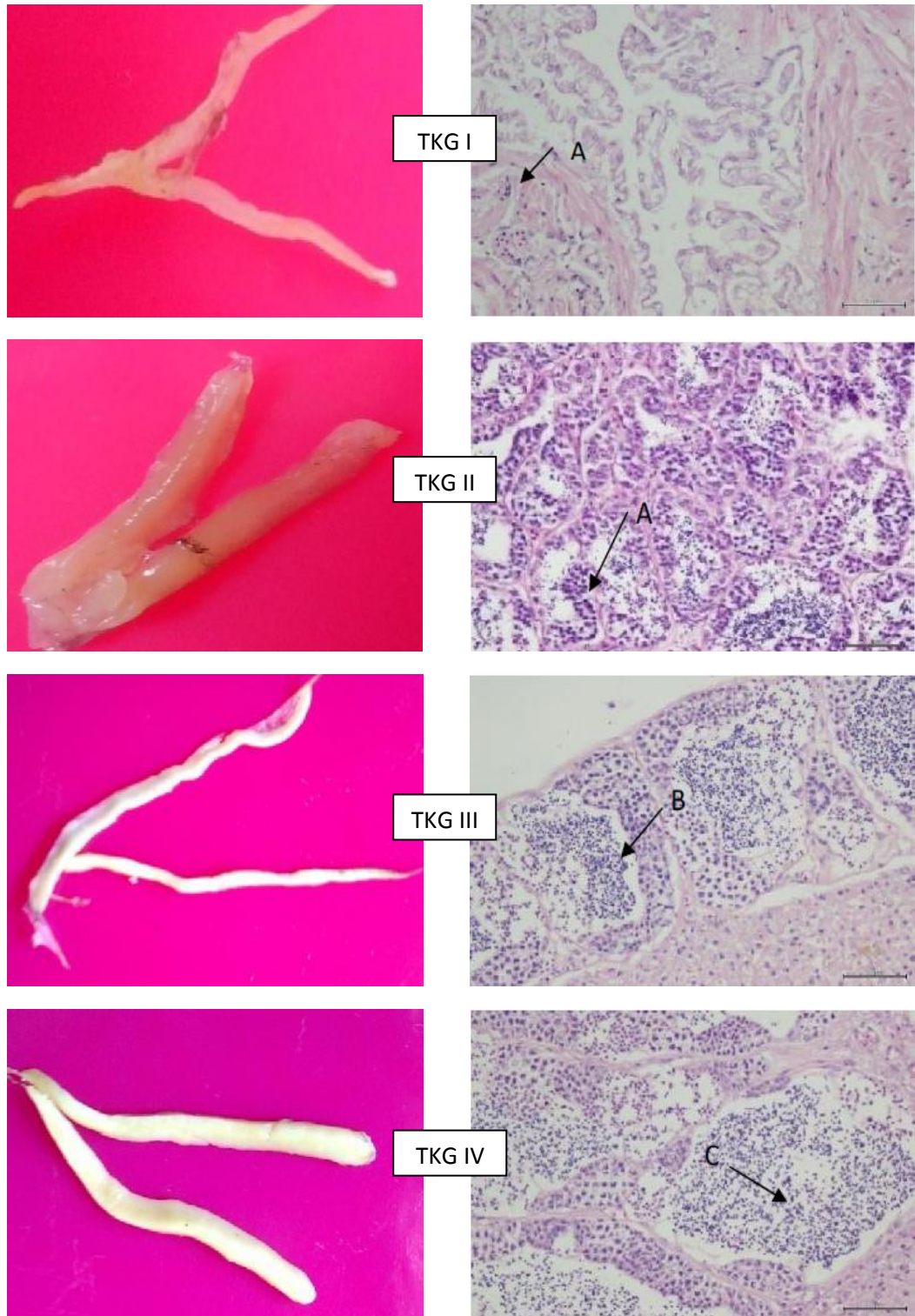
Pada prinsipnya, seksualitas pada ikan terdiri dari dua jenis kelamin yaitu jantan dan betina. Ikan jantan adalah ikan yang mempunyai organ penghasil sperma, sedangkan ikan betina adalah ikan yang mempunyai organ penghasil telur. Sifat seksual primer pada ikan ditandai dengan adanya organ yang secara langsung berhubungan dengan proses reproduksi, yaitu ovarium dan pembuluhnya pada ikan betina, dan testis dengan pembuluhnya pada ikan jantan. Sifat seksual sekunder ialah tanda-tanda luar yang dapat dipakai untuk membedakan ikan jantan dan ikan betina (Efendi, 2011).

2.3.1. Testis

Organ reproduksi ikan jantan secara umum berupa sepasang testis, vesica seminalis, dan saluran-saluran sperma. Gonad jantan vertebrata tersusun dari dua tipe dasar sel, yaitu sel germinal dan sel somatik yang mendukung, memberi nutrisi dan mengatur kegiatan dari sel germinal (Takashima dan Hibiya, 1995). Kebanyakan testis berwarna putih kekuningan dan halus (Efendi, 2011). Saluran sperma dibentuk oleh sel somatik yang berasal dari dinding coelom yang melakukan fungsi pengaturan penjagaan tekanan dan osmosis cairan sperma, terlibat dalam pengangkutan zat-zat yang berat molekulnya rendah. Vesica seminalis merupakan penonjolan keluar pembuluh sperma pada ikan, tidak untuk menyimpan sperma sebelum ejakulasi seperti pada vertebrata lainnya. Pada teleostei vesica seminalis seperti lobuli yang besar yang menghasilkan cairan berwarna kekuningan untuk transport spermatozoa dan aktivitas lain. Elemen pendukung yang lain berupa membran dasar, kecuali pada gonad Teleostei langsung tergantung pada bagian belakang rongga tubuh serta ada saluran oviduk atau saluran sperma (Takashima dan Hibiya, 1995).

Tabel 1. Tahap perkembangan gonad ikan bungo (*G. giuris*, Hamilton-Buchanan 1822) jantan di D. Tempe secara makroskopis dan mikroskopis (Modifikasi dari Cassie, 1979)

Tahap	Makroskopis	Mikroskopis
I Belum matang	Testis kecil memanjang, warna jernih	Testis mengandung sedikit spermatogonia
II Perkembangan awal	Ukuran testis lebih besar, warna putih seperti susu mulai terlihat, bentuk lebih jelas dari pada tingkat satu	Testis mulai didominasi oleh spermatogonia
III Perkembangan remaja	Permukaan testis bagian ventral tampak berlekuk, warna semakin putih dan ukuran semakin besar	Spermatid mulai terlihat dengan jelas dan lebih dominan daripada spermatozoa
IV Perkembangan akhir	Seperti pada tingkat III, berukuran lebih besar, testis semakin pejal	Spermatid telah berkembang menjadi spermatozoa

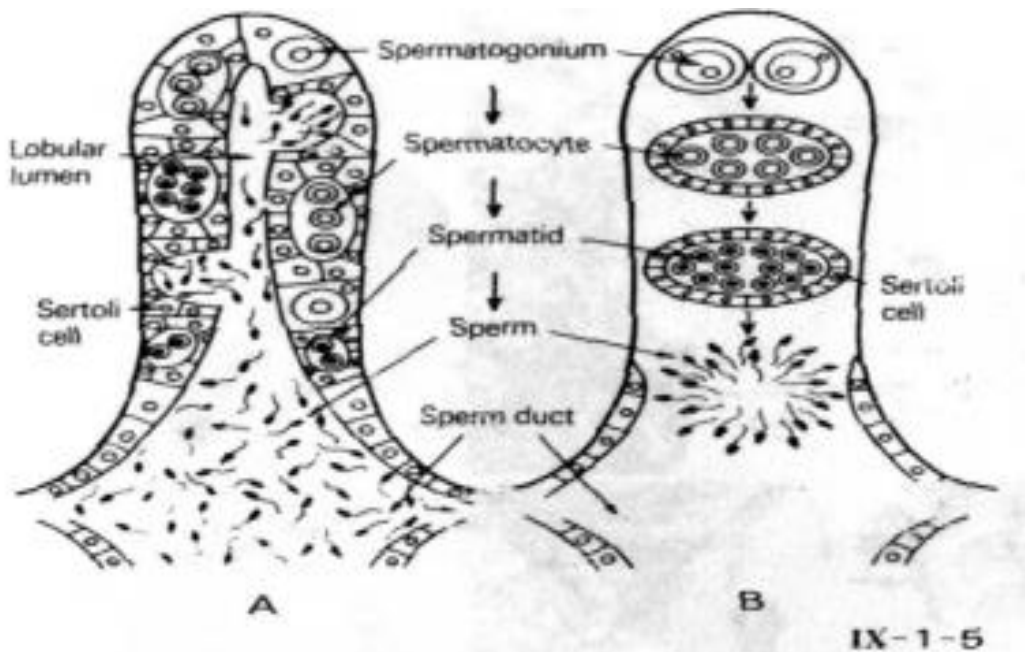


Gambar 2. Gonad dan jaringan gonad ikan bungo (*G. giuris*) jantan pada TKG I-IV (Skala bar ; 5 mm; 50 μ m ; pembesaran 10 x). Pewarnaan Mayer's Haematoxylin (Eragradhini, 2014).

Keterangan : A : spermatosit I, B : spermatosit sekunder, C : spermatozoa

Terdapat beberapa jaringan di dalam testis (Pergiwa, 2003) yaitu : 1). Tubuli seminiferi, epitelnya terdiri dari dua macam sel yang berbeda, yaitu sel germinatif dan sel sertoli. Sel Germinatif merupakan sel yang akan mengalami perubahan selama proses spermatogenesis sebelum siap untuk mengadakan fertilisasi. Sel sertoli merupakan sel yang berbentuk panjang dan kadang-kadang seperti piramid, terletak dekat atau diantara sel germinatif. Sel ini memberi makan kepada spermatozoa yang masih muda, memfagosit sel-sel spermatozoa yang telah mati atau mengalami degradasi; 2). Sel stroma atau tenunan pengikat di luar tubuli seminiferi, yang mengandung pembuluh darah, limfe, sel saraf dan sel makrofag; 3). Sel interstitial dan sel-sel Leydig. Sel Leydig dapat menghasilkan hormon testosteron, yang juga dihasilkan oleh spermatozoa dan kelenjar adrenal.

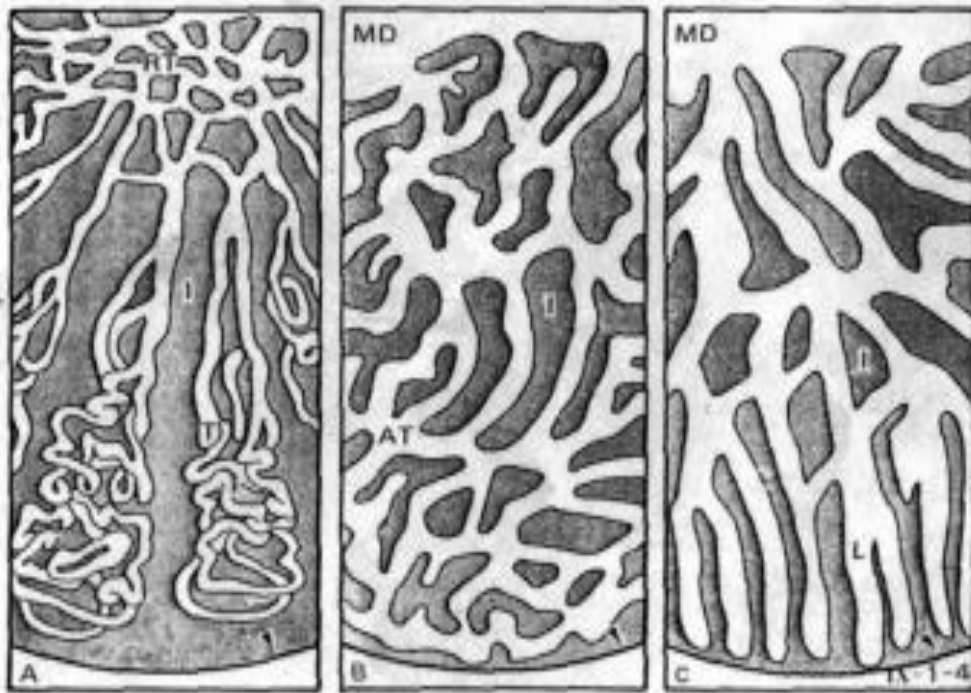
Testis merupakan sepasang organ memanjang yang terletak pada dinding dorsal. Struktur testis bervariasi antar spesies, namun dapat digolongkan dalam dua tipe yaitu tipe lobular dan tubular. Testis tipe lobular umumnya ditemukan pada Teleostei. Tipe lobular adalah gabungan lobuli yang terpisah satu sama lain dengan kulit luar dari kumpulan jaringan fibrosa. Dalam lobul spermatogonia primer mengalami proses meiosis berkali-kali untuk menghasilkan kista spermatogonia. Di luar lobul terdapat sel interstitial dan sel Sertoli (Tang dan Affandi, 2004). Testis dengan tipe lobular ditunjukkan pada Gambar 3. A: Lobul dengan germinalis epitelium yang berisi sel germinal, sel Sertoli, dan spermosit. Spermiasi terjadi dalam lumen lobuler. B: Lobuli terisi dengan pertumbuhan selsel spermatogenik yang terdapat pada pangkal lobul dan perkembangannya teratur, tak ada lumen, spermatogonia, sedangkan spermiasi terjadi pada ujung lobul yang berdekatan dengan ductus efferent (Takashima dan Hibiya, 1995).



Gambar 3. Skema Dua Jenis Testis Lobular pada Teleostei (Takashima dan Hibiya, 1995).

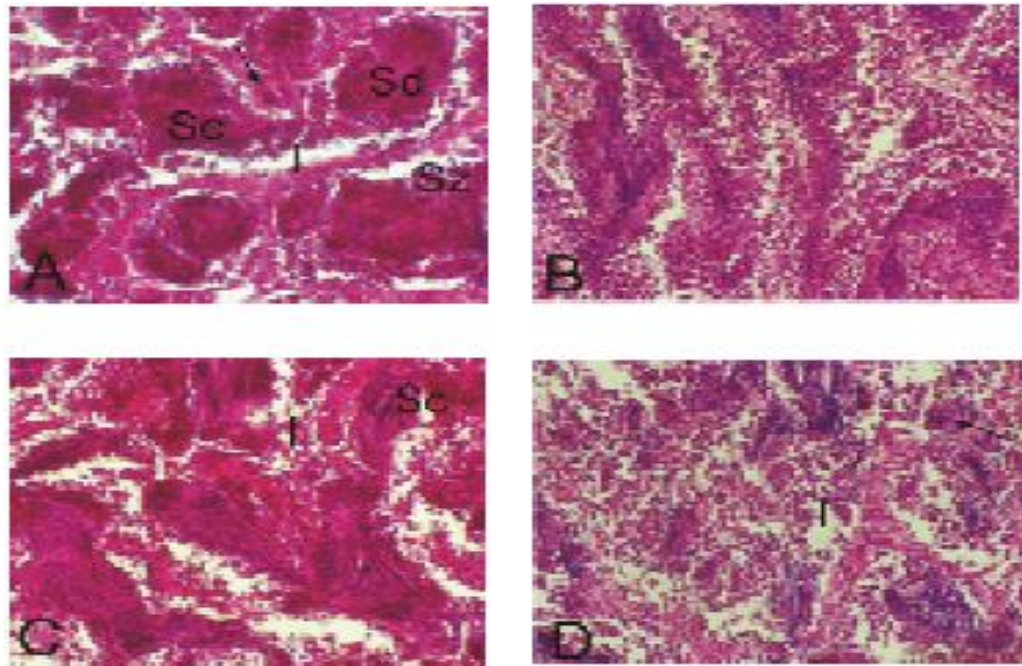
Struktur testis tipe tubular terdapat pada mamalia secara umum berupa sel germinal, sel Sertoli, spermatogonium, spermatozoa, dan lumen tubulus. Di dalam tubulus terdapat sel germinal dan sel Sertoli, sedangkan di luar tubulus terdapat

sel interstitial atau sel Leydig. Sel germinal terkumpul dalam kista-kista seminiferi yang berbeda yaitu spermatosit primer, spermatosit sekunder, dan spermatid pada tingkatan yang berbeda-beda. Menurut Chinabut *et al.*, (1991) sel-sel Sertoli merupakan sel penyangga dari epitelium testikular. Masing-masing tipe sel spermatogenik dibatasi oleh sel Sertoli (Tang dan Affandi, 2004). Testis tipe tubular ditunjukkan pada Gambar 4. A: Testis tubular mamalia dengan tubul (T) berkelok-kelok mengalir masuk ke rete testis (RT) menuju ke luar gonad. B: Testis tubular yang beranastomose ditemukan di beberapa jenis teleostei, tubul (AT) pada testis ini tidak berujung ke luar, tetapi saling berhubungan membentuk jaring-jaring (anastomose) seperti yang dapat dilihat pada testis mamalia, C: Tipe testis lobular pada teleostei pada umumnya lobul tidak mempunyai lumen, tetapi biasanya berujung keluar testis (Takashima dan Hibiya, 1995).



Gambar 4. Skema Tipe-Tipe Testis Tubular (Takashima dan Hibiya, 1995).

Pembentukan spermatozoa dari spermatid di dalam testes disebut spermatogenesis. Proses ini meliputi proliferasi spermatogonia melalui pembelahan mitosis yang berulang dan tumbuh membentuk spermatocyte primer, kemudian melalui pembelahan reduksi (meiosis) membentuk spermatocyte sekunder. Spermatocyte sekunder membelah menjadi spermatid, yang mengadakan metamorfosis menjadi gamet yang ``motile`` (dapat bergerak) dan punya potensi fungsional yang dinamakan spermatozoa. Proses metamorfosis spermatid sering dinamakan ``spermatogenesis`` (Hoar dan Randall, 1969).

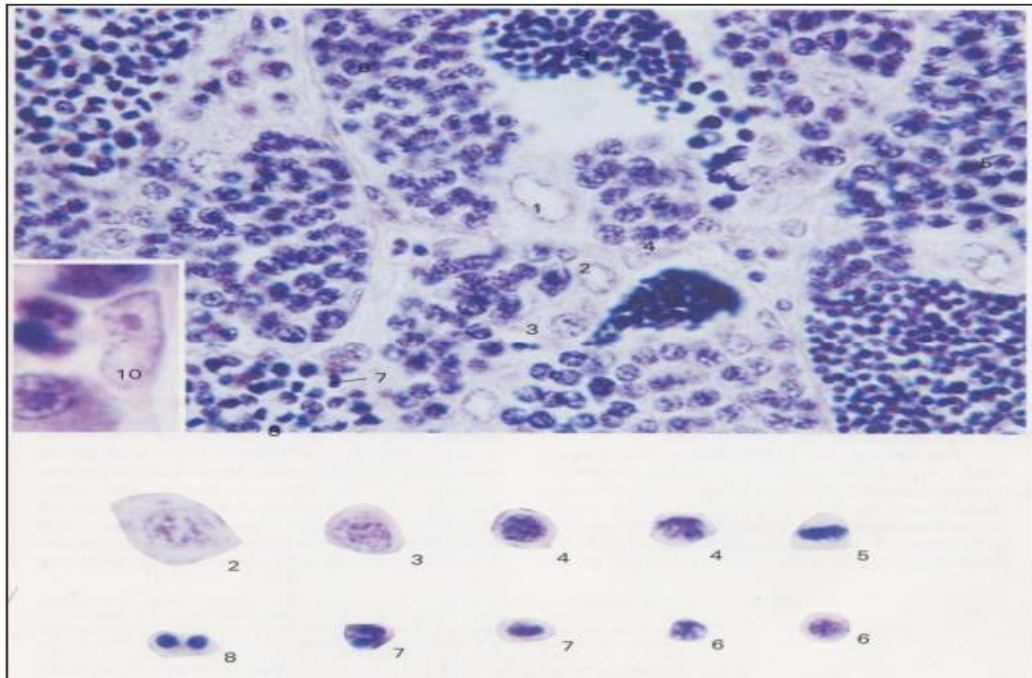


Gambar 5. Histologi testis ikan lemuru pada berbagai tahap perkembangan. A). Tahap 1 (*Immature Stage*) (Sc = Spermatosit, Sd = Spermatid, Sz = Sperma, I = tubulus seminiferus, Tanda panah = Spermatogonium). B). Tahapan Spermatogenesis C) dan D). Tahap pematangan spermatid (I = tubulus seminiferus, Sc dan tanda panah = spermatid) (Ginanjari, 2006).

Proses spermatogenesis dibagi menjadi empat tahap (Hidayat, 2008) yaitu: 1) Tahap proliferasi, yaitu dimulai sejak sebelum lahir sampai saat setelah lahir. Bakal sel kelamin yang ada pada lapisan basal dari tubuli seminiferi melepaskan diri dan membelah secara mitosis sampai dihasilkan banyak sel spermatogonia; 2) Tahap tumbuh, yaitu spermatogonia membelah diri secara mitosis sebanyak empat kali sehingga dihasilkan 16 sel spermatogonia; 3) Tahap menjadi masak, yaitu sel spermatogonia menjadi sel spermatosit. Pada tahap ini terjadi pembelahan meiosis sehingga sel spermatosit primer berubah menjadi sel spermatosit sekunder. Kemudian sel spermatosit sekunder akan berubah menjadi spermatid bersamaan dengan pengurangan jumlah kromosom dari diploid ($2n$) menjadi haploid (n); 4) Tahap transformasi, yaitu terjadi proses metamorfosa seluler dari sel spermatid sehingga terbentuk sel spermatozoa.

Menurut Djuwita *et. al.*, (2000), proses spermatogenesis dibagi menjadi dua tahap yaitu : 1). Spermatositogenesis, adalah pertumbuhan jaringan spermatogenik dengan pembelahan mitosis yang diikuti dengan pembelahan reduksi (meiosis). Pada fase ini spermatogonia mempunyai kemampuan memperbaharui diri, sehingga menjadi dasar spermatogonial stem cell (Ogawa *et al.*, 1997). Pada pembelahan meiosis jumlah kromosom dibagi dua sama banyak yaitu dari diploid ($2n$) menjadi haploid (n), sehingga pada saat yang bersamaan sel benih primordial juga berkembang menjadi spermatogonia yang selanjutnya akan berdiferensiasi menjadi spermatosit primer. Spermatosit primer akan berkembang menjadi spermatosit sekunder. Spermatosit sekunder melalui pembelahan meiosis akan menghasilkan spermatid; 2). Spermogenesis, yaitu sel spermatid akan

mengalami metamorfosa dan membentuk spermatozoa secara sempurna. Perubahan proses metamorfosa ini meliputi pembentukan akrosom, kepala, badan, dan ekor dari spermatozoa.



Gambar 6. Gambar Histologis Testis Ikan (Takayama dan Hibiya, 1995) 2. Sel spermatogonium primer, 3. Sel spermatogonium sekunder, 4. Sel spermatosit primer, 6. Sel spermatosit sekunder 8. Sel spermatid, 9. Sel spermatozoa

Pada TKG I, secara histologi terlihat pada tahap ini testis mengandung sel spermatogonia, Spermatogonia dapat membelah secara mitosis untuk menghasilkan spermatogonia lagi atau mengalami diferensiasi sel menjadi spermatosit primer. tampak pula spermatosit primer yang telah berkembang menjadi spermatosit sekunder, sebagian spermatosit sekunder berkembang menjadi spermatid (Gambar 7) (Tresnati, 2010).

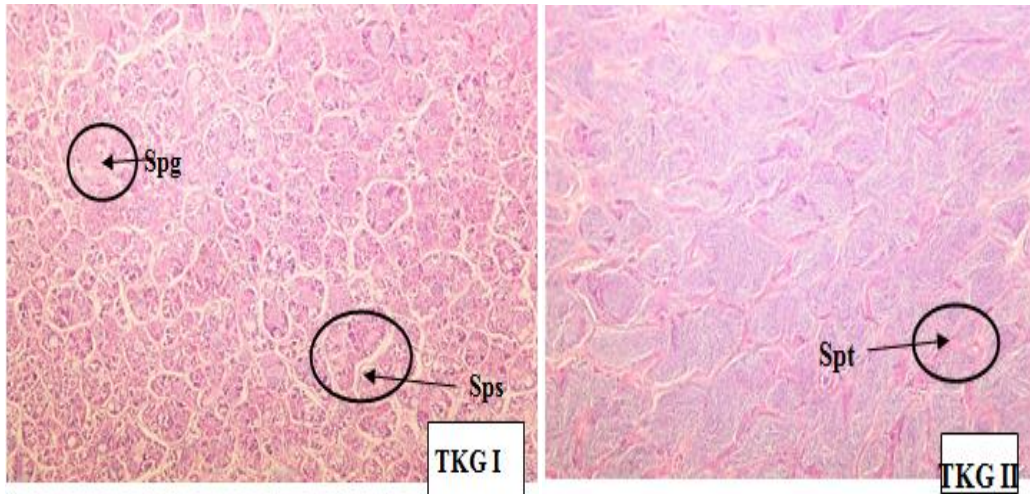
Pada TKG II, testis terdapat spermatid. Keberadaan spermatid ini bukan pembentukan baru, melainkan lanjutan dari pembentukan tahap sebelumnya (Gambar 7). Hal ini sama dengan hasil penelitian Rahardjo, 2004 dimana Testis lebih berkembang daripada TKG I (Tresnati, 2010).

Pada TKG III, spermatogonia telah berubah menjadi menjadi sel spermatid. Jumlah spermatid terus bertambah dan sebagian telah berubah menjadi spermatozoa dewasa dan jumlahnya akan bertambah (Gambar 7) (Tresnati, 2010).

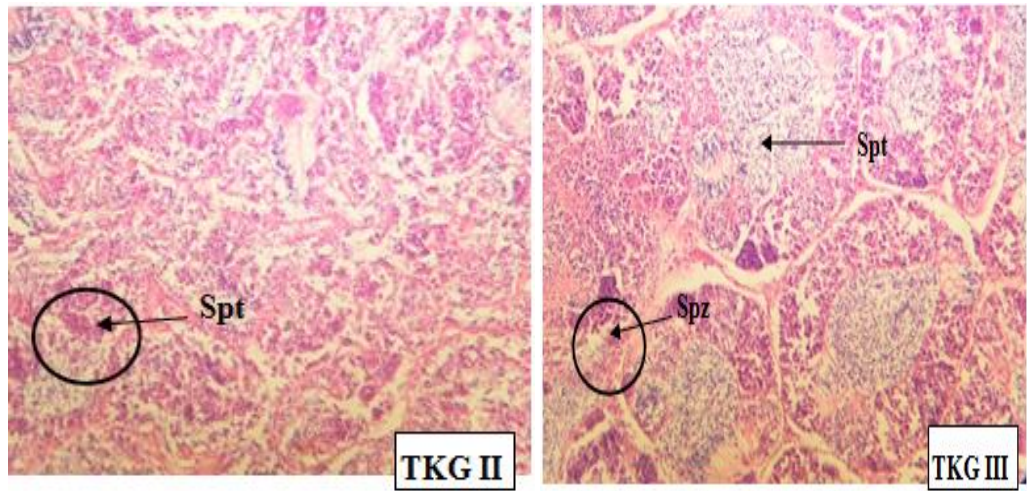
Pada TKG IV, testis pada stadium ini menunjukkan spermatid yang sudah berkembang menjadi spermatozoa (Gambar 7). Spermatozoa berasal dari spermatid yang telah mengalami diferensiasi melalui proses spermiogenesis. Pada fase matang ukuran menjadi semakin kecil sehingga hanya tampak bagian kepala seperti bintik-bintik kecil (Tresnati, 2010).

Pada TKG V, Spermatozoa pada stadium ini makin berwarna gelap karena kepala sperma tahap demi tahap terus menerus menyerap warna (Gambar 7) (Tresnati, 2010).

Pembesaran 10X

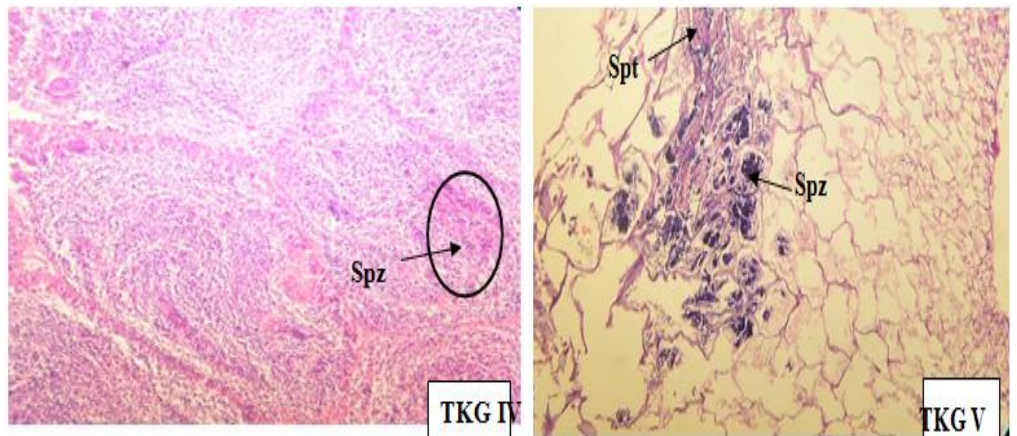


Pembesaran 40X



Pembesaran 40X

Pembesaran 10X



Gambar 7. Histologi testis ikan bete, *Leiognathus equulus* Forsskal 1775 Jantan pada tingkat kematangan gonad I, II, III, IV dan V. Pewarnaan Mayer's Haematoxylin (Tresnati, 2010).

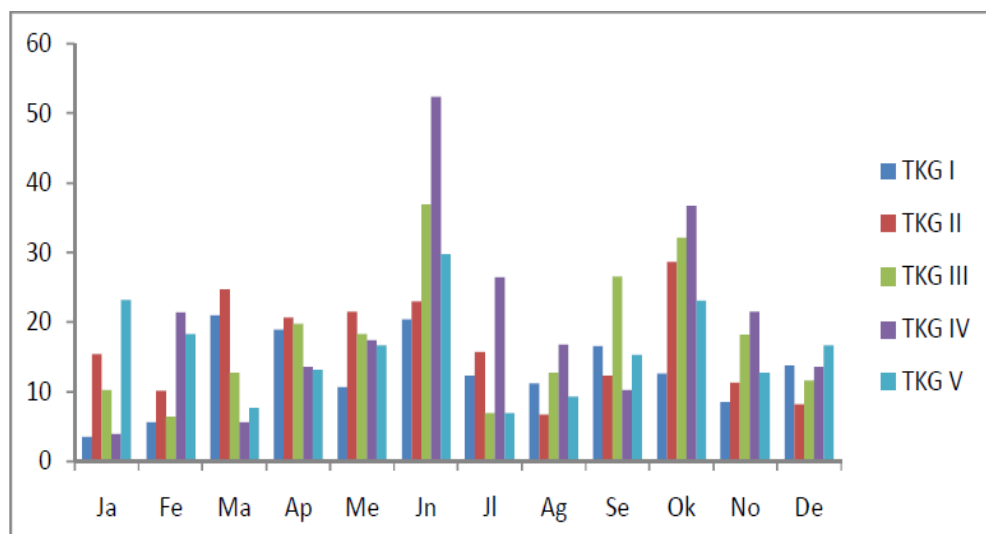
Keterangan: spg = spermatogonia; Sps = Spermatosit; Spt = spermatid; Spz = Spermatozoa.

Untuk menjamin terjadinya fertilisasi, setiap ikan jantan menghasilkan banyak sekali spermatozoa yang ukurannya begitu kecil sehingga dalam satu tetes mani bisa ditemukan lebih kurang satu juta spermatozoa. Spermatozoa yang dihasilkan oleh jenis ikan yang berbeda, bukan saja berbeda dalam hereditasnya, tetapi juga berbeda dalam bentuknya. Spermatozoa ditambah sekresi dari saluran sperma membentuk air mani (milt) yang dikeluarkan pada waktu memijah. Spermatozoa yang tidak aktif dan tidak bergerak sampai sekresi sperma berjumpa dengan sel telur dalam fertilisasi (Efendi, 2011).

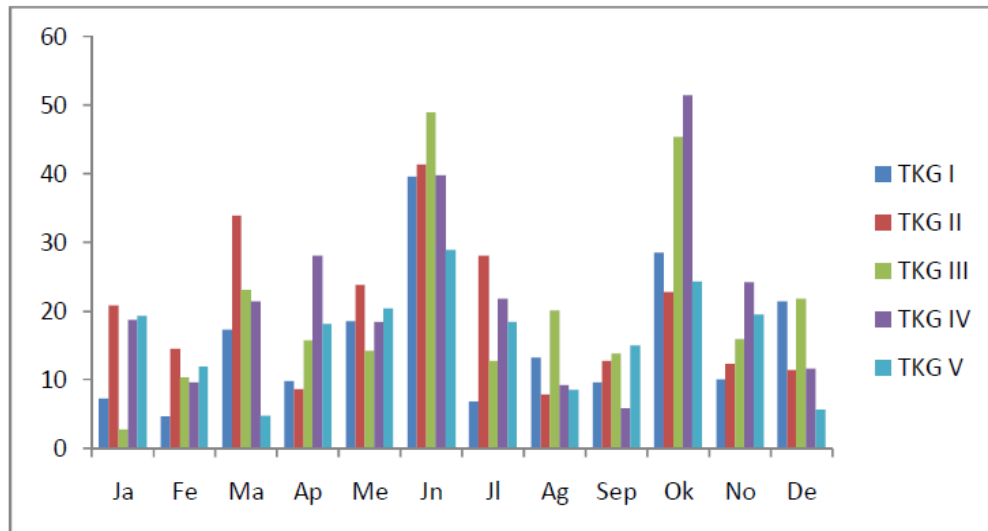
2.3.2. Tingkat Kematangan Gonad (TKG)

Tingkat kematangan gonad dapat digunakan sebagai penduga status reproduksi ikan, yaitu mengetahui ikan telah memijah atau belum; ukuran ikan pada berbagai tingkat kematangan gonad; dan umur pada saat pertama kali matang gonad, proporsi jumlah sediaan yang secara produktif matang dengan pemahaman tentang siklus reproduksi bagi suatu populasi atau spesies. Dalam siklus kematangan gonad ikan akan terus berulang pada berbagai tingkat kematangannya, sehingga variasi dalam beberapa waktu mempunyai kemungkinan yang sama (Sulistiono *et al.*, 2001).

Distribusi tingkat kematangan gonad ikan *T. celebensis* jantan (Gambar 8) dan betina (Gambar 9) selama penelitian. TKG III dan IV ikan jantan dijumpai setiap bulan, dan puncak terjadi pada bulan Juni (TKG III = 3,9 % dan TKG IV=52,3%) dan Oktober (TKG III =31,1 % dan TKG IV=36,7 %). Puncak yang sama terjadi pada ikan betina yaitu bulan Juni TKG III (48,9 %) dan TKG IV (39,8 %), sedangkan bulan Oktober TKG III (45,3 %). Tetapi puncak hasil penelitian ikan *T. celebensis* di Towuti oleh Nasution (2004) terjadi bulan Mei dan Juni (34 %) pada ikan jantan dan ikan betina pada bulan November (28%). Dihubungkan dengan kondisi lingkungan setempat selama penelitian, maka mulai akhir bulan Mei sampai Juni dan bulan September dan Oktober terjadi musim hujan atau pada saat permukaan air danau naik. Lowe-McConnell (1975) menyatakan bahwa fluktuasi permukaan air di danau berperan dalam tingkah laku reproduksi ikan air tawar di daerah tropis (Jayadi *et al.*, 2010).



Gambar 8. Distribusi Tingkat kematangan Gonad *Telmatherina celebensis* jantan pada setiap bulan (Jayadi *et al.*, 2010).

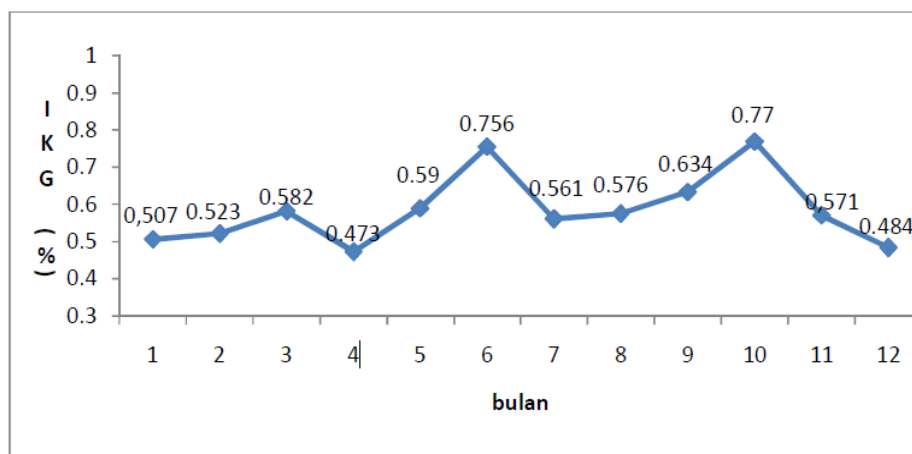


Gambar 9. Distribusi Tingkat kematangan Gonad *T.celebensis* betina pada setiap bulan (Jayadi *et al.*, 2010).

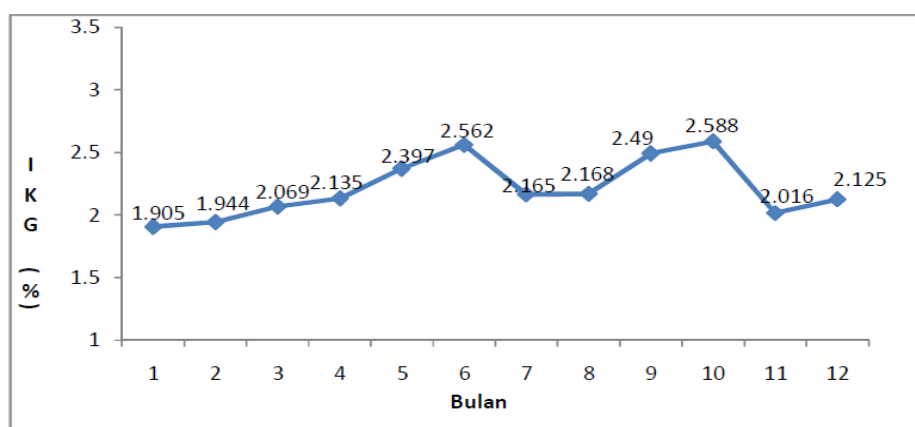
2.3.3. Indeks Kematangan Gonad (IKG)

Tingkat kematangan gonad dapat diketahui dengan cara mengukur berat gonad atau berat tubuh ikan secara keseluruhan. Kematangan gonad secara umum dapat diketahui dari perbandingan relatif antara berat gonad dengan berat tubuh ikan keseluruhan. Indeks pengukuran ini sering disebut sebagai Indeks Kematangan Gonad (IKG). Indeks kematangan gonad merupakan suatu metode kuantitatif untuk mengetahui tingkat kematangan yang terjadi pada gonad. Indeks ini dinamakan juga *maturity* atau Gonado Somatic Index yaitu suatu nilai dalam persen sebagai hasil dari perbandingan berat gonad dengan berat tubuh ikan termasuk gonad dikalikan dengan 100%. Tingkat kematangan gonad ini akan semakin bertambah besar persentasenya dan akan mencapai besar maksimum pada saat menjelang pemijahan dan setelahnya akan turun kembali (Effendie, 1979).

Indeks kematangan gonad *T.celebensis* jantan (Gambar 10) dan betina (gambar 11). Kisaran nilai IKG yang diperoleh untuk jantan (0,38-0,82%) dan betina (1,58-2,64%). Sedangkan kisaran nilai IKG yang diperoleh oleh Nasution (2004) di Danau Towuti yaitu jantan (0,46-0,81%) betina (1,87-2,65%). Nilai IKG tertinggi pada ikan jantan pada bulan Juni (0,756 %) dan bulan Oktober (0,77%), sedangkan IKG tertinggi pada ikan betina juga pada bulan Juni (2,682%) dan bulan Oktober (2,588%). Peningkatan nilai IKG akan terjadi selama gametogenesis berlangsung. Menurut Effendie (1997) bahwa gonad ikan semakin bertambah berat diimbangi dengan bertambah besara ukurannya, karena sebagian besar hasil metabolisme tertuju untuk perkembangan gonad. IKG dapat digunakan untuk menentukan musim pemijahan, dimana IKG ikan pada saat akan memijah semakin tinggi dan setelah memijah akan menurun dengan cepat sampai selesai memijah. Nilai IKG tertinggi dicapai pada saat mencapai TKG IV (Jayadi *et al.*, 2010).



Gambar 10. Indeks Kematangan gonad *T.celebensis* jantan pada setiap bulan (Jayadi *et al.*, 2010).



Gambar 11. Indeks kematangan gonad *T.celebensis* betina pada setiap bulan (Jayadi *et al.*, 2010).

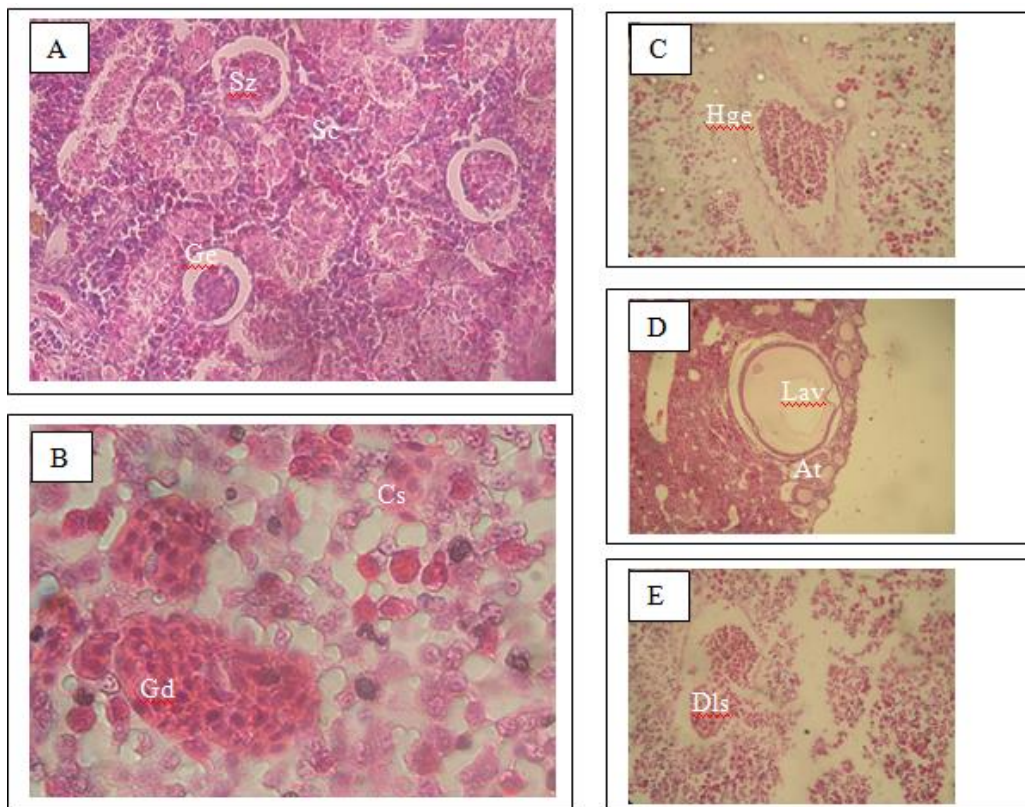
Terlihat dari nilai IKG pada Gambar 3 dan 4 bahwa puncak aktivitas reproduksi (pemijahan) ikan *T. celebensis* di Danau Matano terjadi pada bulan Juni dan Oktober, ini menunjukkan bahwa ikan *T.celebensis* melakukan pemijahan lebih dari sekali dalam setahun (Jayadi *et al.*, 2010).

2.4. Perubahan Histopatologi

Analisa histopatologi dapat digunakan sebagai biomarker untuk mengetahui kondisi kesehatan ikan melalui perubahan struktur yang terjadi pada organ-organ yang menjadi sasaran utama dari bahan pencemar seperti insang, hati, ginjal dan sebagainya. Ada beberapa bentuk umum kerusakan jaringan/organ akibat bahan toksik yaitu: 1) Hiperplasia (atau "hypergenesis") adalah istilah umum yang mengacu pada perkembangan sel-sel dalam suatu organ atau jaringan (misalnya terus-menerus membagi sel). Hyperplasia merupakan penambahan ukuran organ/ jaringan yang terjadi akibat rangsang tertentu, apabila rangsang hilang dapat normal kembali. Hiperplasia dapat mengakibatkan pembesaran organ, pembentukan tumor jinak, atau mungkin hanya terlihat pada analisis histologis dengan mikroskop. Hiperplasia berbeda dari hipertrofi dalam perubahan adaptif hipertrofi sel adalah peningkatan ukuran sel, sedangkan hiperplasia

meliputi peningkatan jumlah sel. 2) Nekrosis (dari bahasa Yunani νεκρός, "mati") adalah kematian dini sel dan jaringan hidup. Nekrosis ini disebabkan oleh faktor eksternal, seperti infeksi, racun atau trauma. Hal ini berbeda dengan apoptosis, yang merupakan penyebab alami selular kematian. Walaupun apoptosis sering memberikan efek yang menguntungkan bagi organisme, nekrosis hampir selalu merugikan, dan dapat berakibat fatal. 3) Atrofia berasal dari bahasa Yunani *Jatropha atrofi* yang berarti "tanpa nutrisi." Dalam istilah biologis merupakan penurunan signifikan dalam ukuran sel dan organ di mana hal ini terjadi, karena hilangnya massa sel. Atrofik menunjukkan penurunan fungsi sel tetapi tidak mati. Atrofi merupakan suatu keadaan yang tidak wajar dimana jumlah dan volume sel berada di bawah normal dan garis luar sel menjadi tidak dapat dibedakan bahkan sering kali nucleus menjadi kecil bahkan hilang sama sekali sehingga dapat mengakibatkan kematian sel (Takashima dan Hibiya, 1995).

Keracunan logam dalam tubuh mempengaruhi banyak jaringan dan organ tubuh, seperti sistem syaraf, sistem ginjal, sistem reproduksi, sistem endokrin, dan jantung (Palar, 1994). Menurut Tresnati dan Djawad, (2012), kemampuan adaptasi hewan menjadi semakin lemah apabila konsentrasi cemaran logam meningkat dan terpapar logam berat dalam waktu yang lama.



Gambar 12. Gonad struktur histologis sinar tutul biru (*Dasyatis kuhlii*) setelah paparan pada konsentrasi yang berbeda dari Hg. A, Kontrol; B, 0,0025 ppm; C, 0,0050 ppm; D, 0,010 ppm; E, 0,0020 ppm. Sz: Spermatozoa, Sc: sel Sertoli, Ge: epitel Germinal, At: Atresia; HGE: Hyperplasia germinal epithelium, Cs: *cloudy swelling*; Gd: Penggumpalan darah; Lav: Lepasnya amplop vitellin, Lp: lobulus terputar (Tresnati dan Trijuno, 2014).

Testis berada dalam bentuk normal, dengan spermatozoa, sel Sertoli dan epitel germinal dalam posisi normal (Gambar 12 A). Epitel germinal ini juga dikenal sebagai dinding tubulus seminiferus dalam testis. Sel-sel pada epitel germinal saling terhubung erat. Sel-sel Sertoli terletak di pinggir lobulus. Dinding lobulus terdiri dari sel-sel Sertoli yang terkait dengan sel-sel germinal / unit sel germinal (Bizzott dan Gudinho, 2007).

Pada konsentrasi 0,0025 ppm ditunjukkan pada Gambar 12 B terjadi pembengkakan dan kekeruhan sel (*cloudy swelling*) pada sel-sel Sertoli. Dalam kondisi ini, terlihat juga gumpalan darah yang terbentuk dari penghancuran sel darah akibat infiltrasi berlebihan substansi dari luar. Hal ini terjadi karena sel-sel Sertoli berfungsi dalam masuk dan keluarnya cairan dalam sel. Menurut Huang, et al., (2002), sel-sel Sertoli memperbesar volume cairan selnya sebagai struktur kista pada awal musim reproduksi. Pada Gambar 12 C dengan konsentrasi 0,0050 ppm menunjukkan pembesaran sel epitel germinal (*hyperplasia germinal epithelium*) dan terputarnya lobulus spermatozoa. Menurut Dokumen Pedoman OECD untuk Diagnosis Histopatologi-endokrin terkait Gonad Ikan, degenerasi testis dapat menyebabkan kehilangan epitel germinal di tempat tertentu atau secara meluas. Pada Gambar 12 D dengan konsentrasi Hg 0,01 ppm menunjukkan perkembangan telur pada tahap vitelogenesis. Tahap ini ditandai oleh proliferasi volume sitoplasma yang berasal dari luar vitelogenin yang membentuk kuning telur. Oosit kortikal alveoli sebagai indikasi awal proses vitelogenesis (Casadevall et al., 2009). Mahmoud, (2009) mengemukakan bahwa sebagian besar vakuola dalam tahap ini terhubung satu sama lain dan membentuk ruang antara butiran kuning telur dalam sitoplasma. Pengendapan butiran kuning telur yang mengandung lipoprotein muncul di daerah pinggir oosit dan kemudian menyebar sampai pusat sitoplasma oosit. Pada Gambar 12 D menunjukkan lepasnya lapisan / amplop vitelline. Biasanya, amplop vitelline berfungsi untuk melindungi telur, mengikat sperma, mencegah polyspermi selama pembuahan, dan mencegah pembelahan blastomer. Kerusakan ini (lepasnya amplop vitellin) disebabkan oleh akumulasi dari komponen organik dan anorganik dalam tahap vitelogenesis, di mana darah telah terkontaminasi logam merkuri yang diserap oleh sel-sel telur melalui membran sehingga terjadi kerusakan permeabilitas membran. Hal ini juga dijelaskan oleh Sorrensen, (1995) bahwa merkuri yang cenderung merusak membran plasma dan permeabilitas karakteristik sel yang terlibat. Pada tahap ini juga terlihat adanya telur atresi yaitu telur matang yang hancur karena tidak dikeluarkan, dan ini mungkin disebabkan oleh pelepasan hormon yang tidak tepat. Terputarnya lobulus terjadi pada testis ikan Pari Kembang (*D. kuhlii*) jantan dalam bak E (Gambar 12 E). Lobulus terputar juga terjadi pada testis ikan *Colisa fasciatus* yang terpapar oleh kalium kromat. Lobulus terputar terjadi apabila epitel germinal robek dan terbongkar di beberapa tempat di dalam lobul (Shukla dan Shukla, 2013).

3. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juni - September 2015. Lokasi penelitian bertempat di Laboratorium Anatomi dan Histologi Program Studi Kedokteran Hewan Universitas Hasanuddin dan Balai Besar Veteriner Maros. Pengamatan dilakukan di Laboratorium Diagnostik Klinik Hewan Pendidikan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

3.2. Jenis Penelitian dan Metode Pengambilan Sampel

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Metode yang digunakan dalam pengambilan sampel adalah selektif. Sampel dipilih dengan cara menangkap menggunakan alat jaring ikan dalam keadaan hidup, dengan ukuran yang bervariasi.

3.3. Materi Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ikan opudi sebanyak 6 ekor, formalin 4%, alkohol seri (30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% dan 100%), pewarna eosin hematoksilin, xylol, canada balsam, aquades dan air mengalir. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat bedah, penggaris, timbangan, botol film untuk menyimpan sampel, oven, seperangkat alat untuk pewarnaan HE, mikrotom, object glass dan covernya, kertas saring, kertas label, mikroskop untuk pengamatan histologis, kamera DSLR Nikon untuk dokumentasi dan atlas histologi ikan.

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Pengambilan Sampel

Ikan opudi diambil dengan cara menyelam di tengah danau dan ditangkap menggunakan jaring ikan. Kemudian disimpan dalam suatu wadah yang telah diisi dengan air dari Danau Matano. Ikan kemudian dikeluarkan dari wadah. Setelah ikan mati kemudian di nekropsy dan diambil testisnya.

3.4.2. Pembuatan Sediaan Histologi

Setelah ikan diambil. Ikan dikeluarkan dari wadahnya untuk di nekropsy. Kemudian, membuka area abdomen untuk pengamatan topografik. Pengamatan dilakukan pada organ gonad pada area abdominal yang menempel ditubuh. Pengambilan gambar dengan menggunakan kamera DSLR NIKON.

Organ tersebut kemudian diangkat sambil diamati. Proses penyimpanan dilakukan dengan menyimpan organ dalam larutan Neutral buffered formalin (NBF) atau *formaldehid* 4% selama 2 x 24 jam. Organ selanjutnya dipindahkan ke larutan alkohol 70% sebagai *stop point*. Observasi terhadap kondisi histologi testis dilakukan secara mikroskopis dengan mengamati preparat jaringan testis. Preparat histologi organ dibuat dengan metode parafin dan pewarnaan Haematoxylin-Eosin.

Sampel organ yang telah difiksasi dalam formalin 4% selama 2 hari kemudian dibuat sediaan histologis (metode parafin dan pewarnaan Hematoksin-Eosin (HE)) dengan tahapan pertama dehidrasi, dilakukan dengan memasukkan organ tersebut ke dalam alkohol 70%, 80%, 90%, 95%, dan 100% masing-masing konsentrasi direndam selama satu hari. Clearing atau dealkoholisasi (pembersihan), dilakukan dengan memasukkan organ ke dalam xylol I dan II masing-masing 15 menit. Infiltrasi ke dalam parafin, dilakukan di dalam oven pada suhu 48°C. Setelah itu berturut-turut dimasukkan ke dalam paraffin murni I selama 2 jam, parafin II selama 1 jam, dan III selama 2 jam. Embedding, jaringan dari paraffin III ditanamkan ke dalam kotak karton yang telah berisi paraffin cair. Jaringan diletakkan pada bagian dasar tengah dengan posisi melintang. Sectioning (pemotongan), dilakukan dengan memasang holder di mikrotom, kemudian mengatur ketebalan irisan sebesar ketebalan 4 μm menggunakan mikrotom, kemudian diletakkan pada gelas objek dan disimpan dalam inkubator dengan suhu 40°C selama 24 jam. Deparafinasi, hal ini dilakukan untuk menghilangkan parafin, sediaan histologis dimasukkan ke dalam xylol I dan II masing-masing 10 menit. Staining (pewarnaan) dilakukan dengan pewarna eosin hematoksin. Dimasukkan ke hematoxylin sekitar 1 menit, lalu dicuci dengan air mengalir selama 10 menit, dicelup aquades lalu ke alkohol 30%, 40%, 50%, 60%, 70% beberapa celupan. Dimasukkan ke dalam eosin 1-2 menit, kemudian dicelupkan ke alkohol 70%, 80%, 90%, dan 95%, lalu dikeringkan dengan kertas saring. Dimasukkan xylol selama 15 menit, kemudian sediaan histologis ditetesi canada balsam. Terakhir dilakukan mounting (penutupan) dan Labelling, kemudian disimpan dalam kotak sediaan.

3.4.3. Pengukuran Kadar Logam

Pengukuran kadar logam yang terkandung di perairan Danau Matano dengan menggunakan uji kualitas air dengan metode sampling sesaat (*grab sample*). Jenis sampel yang digunakan adalah air dari perairan tersebut. Metode sampling sesaat adalah air limbah yang diambil sesaat pada satu lokasi tertentu. Pengukuran ini dilakukan di Balai Teknik Kesehatan Lingkungan dan Pengendalian Penyakit Kelas I Makassar dan dilakukan oleh pihak balai tersebut.

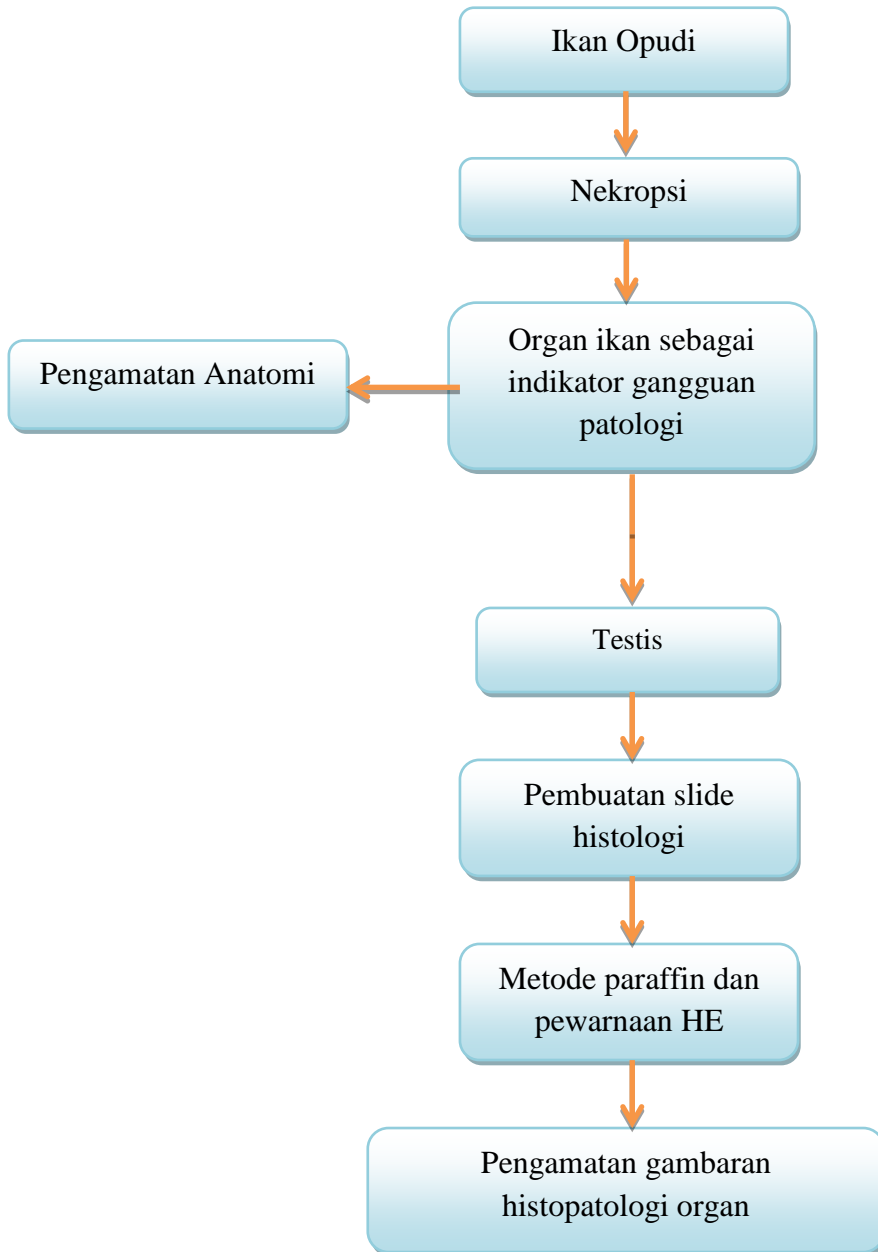
3.4.4. Pengamatan Mikroskopik

Pengamatan dilakukan di bawah mikroskop, dengan pembesaran lensa subjektif 10x serta lensa objektif 10x, dan 40x. Pengambilan gambar dilakukan dengan menggunakan *optik lens*. Preparat histologi dari gonad ikan opudi kemudian diamati. Bagian yang diamati adalah testis. Dimana pada testis yang diamati yaitu sel Sertoli, sel spermatogonia, sel spermatosit primer dan sekunder, sel spermatid, sel spermatozoa, sel *leydig*, tubulus serta lumen tubulus.

3.5. Analisis Data

Analisa data yang digunakan adalah analisis data deskriptif kualitatif. Pada metode ini akan menjelaskan mengenai gambaran histopatologi dari testis ikan opudi (*Telmatherina celebensis*).

3.6. Alur Penelitian



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Morfometrik Sampel Ikan Opudi

Pada penelitian ini jumlah sampel yang digunakan yaitu sebanyak 6 sampel ikan opudi jantan dengan ukuran yang bervariasi (Tabel 1). Penangkapan ikan dilakukan pada bulan Juni karena pada bulan ini ikan opudi mencapai tingkat kematangan gonad tertinggi. Hal ini berdasarkan pada hasil penelitian Jayadi *et. al.*, (2010) mengatakan bahwa puncak tingkat kematangan gonad didapat pada bulan Juni dan Oktober, sedangkan indeks kematangan gonad tertinggi pada ikan jantan terjadi bulan Juni (0,756%) dan Oktober (0,77%), pada kisaran panjang total 62,3-86,4 mm.

Tabel 2. Daftar morfometrik sampel ikan opudi

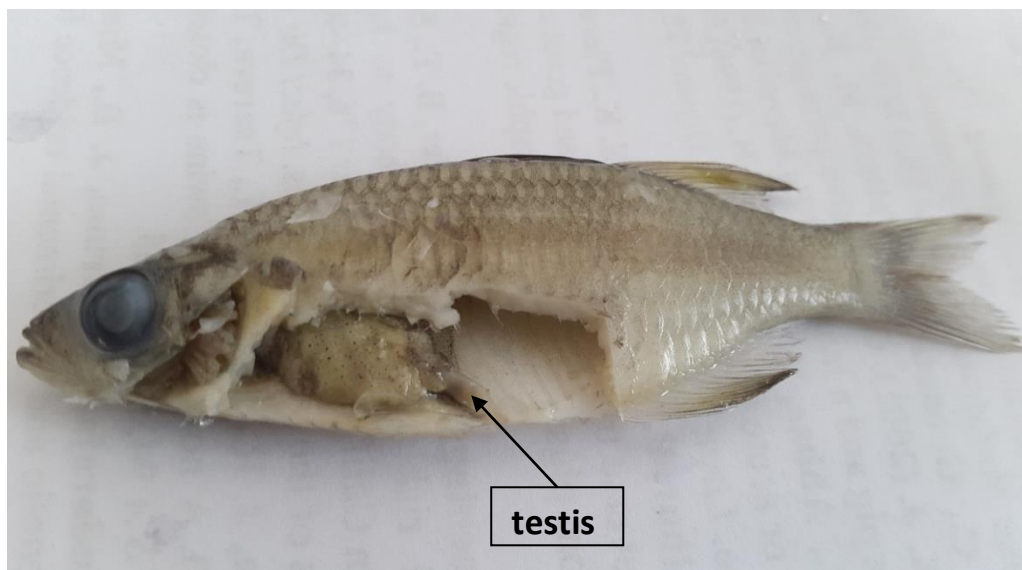
No.	Tipe Ikan	Panjang Ikan	Berat Ikan
1.	A	95 mm	10.8 g
2.	B	92 mm	10.3 g
3.	C	75 mm	6.1 g
4.	D	95 mm	10 g
5.	E	82 mm	9 g
6.	F	90 mm	9.6 g

4.2. Pengamatan Makroskopik

Testis memiliki bentuk longitudinal, sifatnya internal dan pada umumnya sepasang. Testis bergantung pada bagian atas rongga tubuh dengan perantara mesorchium, diatas atau dibawah gelembung gas (jika ada), beratnya bisa mencapai 12% atau lebih berat dari pada badannya, kebanyakan berwarna putih keruh (Efendi, 2011).

Ciri-ciri makroskopis testis pada berbagai tingkat kematangan yaitu, pada TKG I (belum matang) bentuk testis kecil memanjang dan memiliki warna yang jernih. TKG II (perkembangan awal) ukuran testis lebih besar, warna putih seperti susu mulai terlihat, bentuk lebih jelas dari pada tingkat satu. TKG III (perkembangan remaja) permukaan testis bagian ventral tampak berlekuk, warna semakin putih dan ukuran semakin besar. TKG IV (perkembangan akhir) seperti pada TKG III, berukuran lebih besar, testis semakin pejal (Eragradhini, 2014).

Pada hasil pengamatan makroskopiknya terlihat testis ikan opudi sepasang berwarna putih, memanjang ukurannya kecil dan sangat rapuh ketika disentuh. Hal ini bisa disebabkan karena adanya suatu kontaminasi dari pencemaran lingkungan atau limbah industri.



Gambar 13. Hasil nekropsi ikan opudi

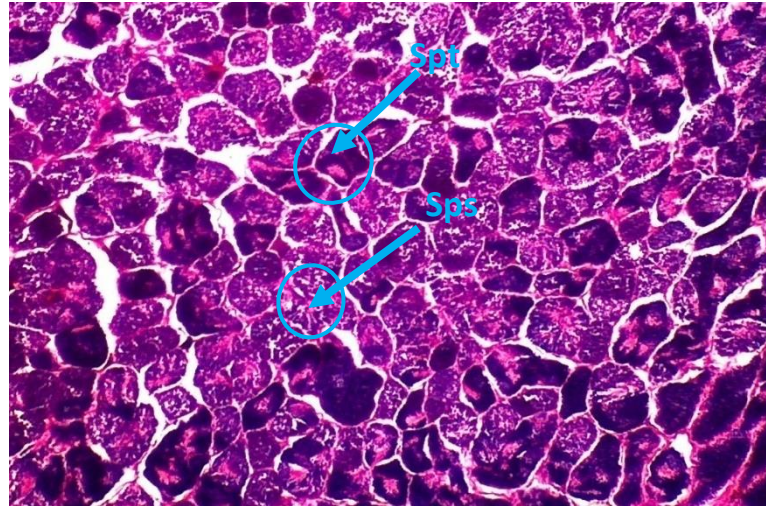
4.3. Pengamatan Mikroskopik

Testis merupakan sepasang organ memanjang yang terletak pada dinding dorsal. Testis terdiri atas tubulus seminiferus, yang dibungkus jaringan ikat halus. Di dalam tubulus seminiferus epitelnya terdiri dari dua macam sel yang berbeda, yaitu sel germinal dan sel sertoli. Sel germinal terdiri atas sel spermatogonia, sel spermatosit, sel spermatid dan sel spermatozoa. Sel Sertoli adalah sel pyramid memanjang dengan inti memanjang yang sering berbentuk segitiga. Dasar sel sertoli melekat pada lamina basalis, sedangkan ujung apeksnya sering meluas ke dalam lumen tubulus seminiferus. Fungsi utama sel Sertoli adalah untuk menunjang, melindungi dan mengatur nutrisi spermatozoa. Selain itu, sel Sertoli juga berfungsi untuk fagositosis kelebihan sitoplasma selama spermatogenesis, sekresi sebuah protein pengikat androgen dan inhibin, dan produksi hormon anti-Mullerian (Junqueira, 2007).

Pada jaringan ikat halus didalamnya ditemukan pembuluh darah, saraf dan sel *leydig*. Letak Sel *leydig* berada diantara tubulus seminiferus, sehingga mempunyai nama lain yaitu sel intersisial *leydig*. Sel *leydig* dewasa berbentuk oval, dengan sitoplasma yang eosinofilik, kaya retikulum endoplasma halus dan mitokondria dengan *tubular cristae*, yang merupakan karakter untuk sel penghasil steroid (Dong, 2004).

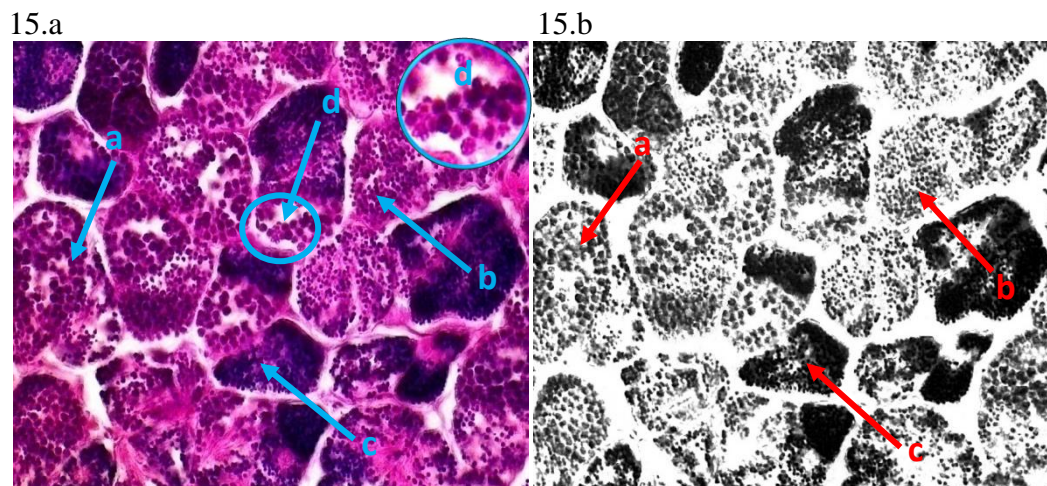
Klasifikasi mikroanatomi testis ikan menurut Chinabut *et al.* (1991) adalah sebagai berikut TKG I (spermatogonia) ditandai dengan sel-sel germinal aktif membentuk spermatogonia hampir di seluruh tubuli maupun lobuli, pada lobuli di Teleostei. Kebanyakan sel spermatogonia memiliki sebuah nukleus, bentuk tidak beraturan dengan membran kista yang tidak jelas. Nukleus mengandung granula yang berwarna terang dengan bentuk bervariasi, memiliki sebuah nukleolus. TKG II (spermatosit primer) ditandai dengan adanya membran kista, terlihat jelas di dalamnya terdapat banyak sel spermatosit primer, spermatosit primer mempunyai nukleus berbentuk bola dan mengandung granula berwarna gelap. TKG III (spermatosit sekunder) spermatosit primer akan membelah secara mitosis membentuk spermatosit sekunder. Ukuran lebih kecil daripada spermatosit primer

dan nukleusnya mengandung kromatin yang tebal. TKG IV (spermatid) kista-kista yang berisi spermatosit sekunder berkembang dan melepaskan sel-selnya ke dalam lumen, kemudian matang sempurna menjadi spermatid. TKG V (spermatozoa) spermatid telah menjadi spermatozoa yang dilengkapi dengan kepala dan ekor, sehingga bisa bergerak aktif di dalam lumen.



Gambar 14. Testis ikan opudi pembesaran 10x10. Pewarnaan HE.
(Spt = Sel Spermatid; Sps = Sel Spermatosit)

Beberapa sel germinal dapat kita lihat pada gambar 14 pada pembesaran 100x dimana terlihat adanya sel spermatosit dan sel spermatid tetapi pada pembesaran ini sel-selnya belum tampak secara spesifik.



Gambar 15. Histologi testis ikan opudi pembesaran 40x10. Pewarnaan HE (A) dan Sketsa (B).

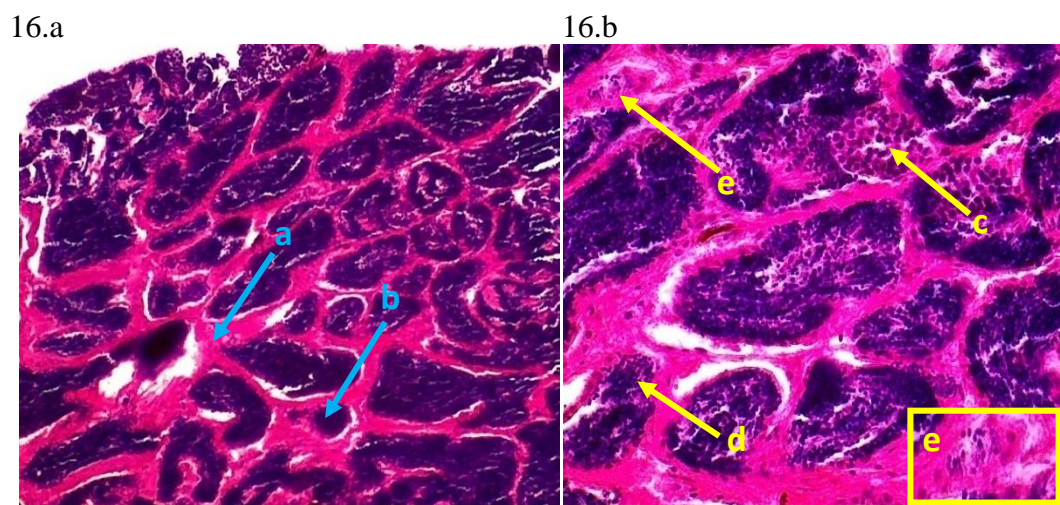
(a. Sel Spermatosit primer; b. Sel Spermatosit sekunder; c. Sel Spermatid; d. Pembelahan sel)

Pada gambar 15 terlihat gambaran mikroskopik testis ikan opudi yang normal dengan terlihatnya beberapa sel-sel germinal seperti sel spermatosit primer, sel spermatosit sekunder dan sel spermatid. Disini tampak jelas sel spermatid yang dominan dapat dilihat jumlahnya sangat banyak di beberapa

tempat. Selain itu juga ditemukan adanya pembelahan sel dimana sel spermatosit primer berubah menjadi sel spermatosit sekunder.

Gambar 15.b merupakan hasil sketsa dari gambar 15.a dimana pada sketsa di atas kita dapat melihat adanya perbedaan ukuran tiap sel germinal. Ukuran sel germinal pada ikan berbeda dengan hewan mamalia. Pada ikan semakin matang sel germinalnya maka ukurannya semakin kecil. Terlihat bahwa ukuran sel spermatid lebih kecil dibanding dengan sel spermatosit primer.

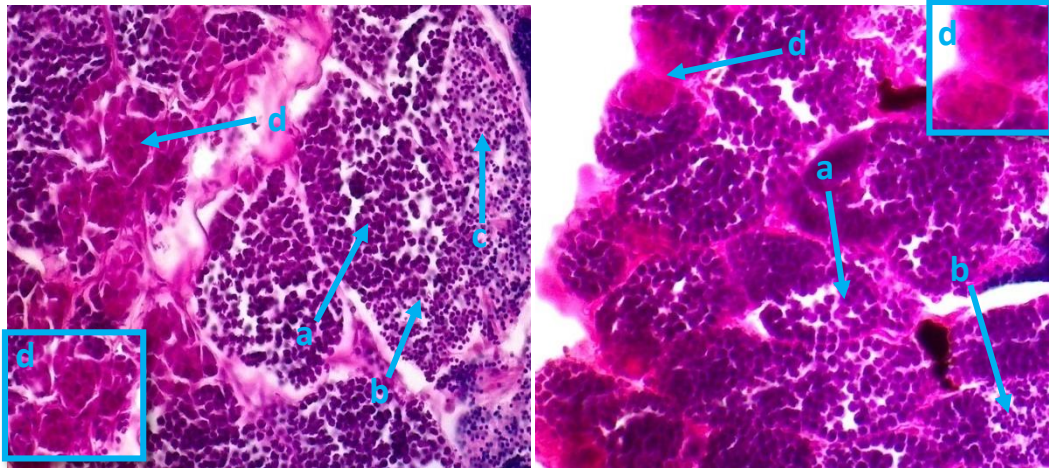
Hasil pengamatan mikroskopik testis ikan opudi ini lebih mengacu kepada gambaran histopatologi dengan ditemukan adanya kerusakan pada intertubulus, tubulus seminiferus, sel *leydig* dan sel germinal. Kerusakan-kerusakan itu berupa dilatasi intertubulus, lumen tubulus tidak beraturan, infiltrasi sel radang, hemoraghi di beberapa tempat, hilangnya inti sel dari sel leydig, hilangnya sel-sel di daerah interstisial serta terhambatnya pembentukan sel spermatozoa.



Gambar 16. Testis ikan opudi pembesaran 10x10 dan 40x10. Pewarnaan HE.

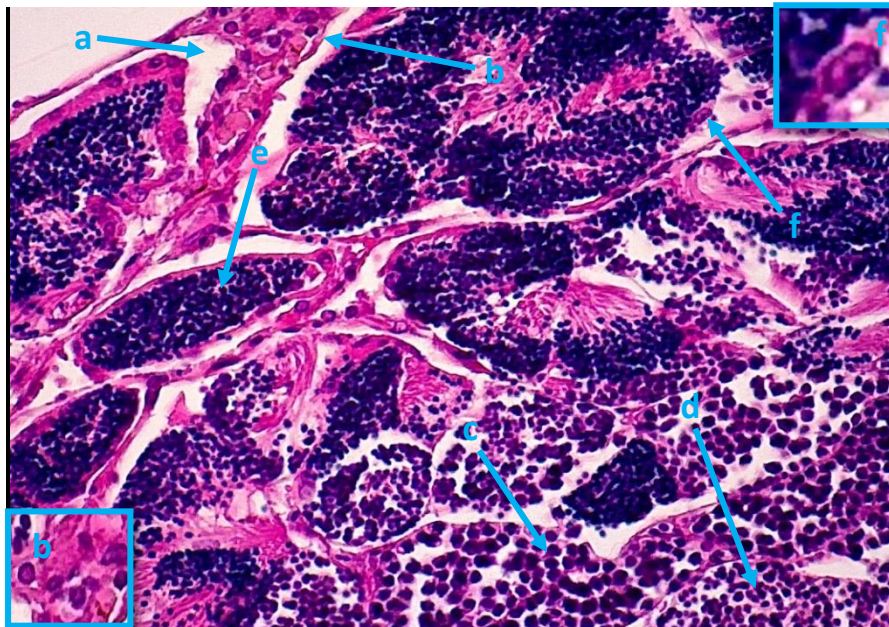
(a. Intertubulus/jaringan ikat; b. Tubulus seminiferus; c. Sel Spermatosit primer; d. Sel Spermatid; e. Infiltrasi sel radang)

Pada gambar 16 ditemukan adanya infiltrasi sel radang di beberapa tempat. Infiltrasi sel radang menyebabkan pembuluh darah disekitar sel radang melebar yang berujung pada dilatasi intertubulus. Pelebaran pembuluh darah mengakibatkan peningkatan jaringan ikat sehingga menekan tubulus seminiferus yang mengakibatkan tubulus mengecil. Di dalam tubulus seminiferus epitelnya terdiri dari dua macam sel yang berbeda, yaitu sel germinatif dan sel sertoli. Sel Germinatif merupakan sel yang akan mengalami perubahan selama proses spermatogenesis sebelum siap untuk mengadakan fertilisasi (Pergiwa, 2003). Apabila terjadi atrophy tubulus maka sel germinal yang dihasilkan akan berkurang jumlahnya dan proses spermatogenesis akan terhambat. Beberapa sel germinal dapat kita lihat pada gambar 16.b. Sel-sel germinal yang terlihat pada gambar ini, yaitu sel spermatosit primer dan sel spermatid.



Gambar 17. Gambar histopatologi testis ikan opudi pembesaran 40x10. Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin).
 (a. Sel Spermatisit primer; b. Sel Spermatisit sekunder; c. Sel Spermatisid; d. Hemoraghi)

Pada gambar 17 terlihat lumen tubulus yang bentuknya tidak beraturan dan hemoraghi di beberapa tempat. Hemoraghi yang terjadi di testis bisa disebabkan karena infiltrasi berlebihan substansi dari luar yang menyebabkan timbulnya lesio di testis dan berujung pada hemoraghi. Sel-sel germinal yang terlihat pada gambar ini sama dengan sel-sel germinal yang terlihat pada gambar 15.



Gambar 18. Potongan melintang testis ikan opudi pembesaran 40x10. Pewarnaan HE (Hematoksilin-Eosin).
 (a. Intertubulus b. Sel *leydig*; c. Sel Spermatisit primer; d. Sel Spermatisit sekunder; e. Sel Spermatisid; f. Sel sertoli)

Pada gambar 18 terlihat lumen tubulus bentuknya tidak beraturan dan adanya nekrosis sel *leydig* di beberapa tempat. Nekrosa merupakan jenis kematian sel ireversibel yang terjadi ketika terdapat cedera berat atau lama hingga suatu saat

sel tidak dapat beradaptasi atau memperbaiki dirinya sendiri. Sel nekrosis biasanya disebabkan oleh faktor eksternal, seperti infeksi, racun atau trauma. Umumnya perubahan-perubahan lisis yang terjadi dalam jaringan nekrotik dapat melibatkan sitoplasma sel, perubahan-perubahan paling jelas bermanifestasi pada inti. Ada tiga proses nekrosis sel, yaitu: 1) Inti sel yang nekrosis akan menyusut, memiliki batas yang tidak teratur dan berwarna gelap. Proses ini dinamakan piknosis. 2) Kemungkinan lain inti dapat hancur dan membentuk fragmen-fragmen materi kromatin yang tersebar di dalam sel, proses ini disebut sebagai karioreksis. 3) Pada beberapa keadaan inti sel tidak dapat diwarnai lagi dan benar-benar hilang proses ini disebut sebagai kariolisis. Pengaruh nekrosis mengakibatkan hilangnya fungsi pada daerah yang nekrosa. (Price dan Wilson 2006).

Sel *leydig* merupakan tempat produksi hormon androgen. Jika sel *leydig* mengalami kerusakan maka hormon androgen tidak akan berperan baik pada proses reproduksi ikan jantan. Kerusakan ini dapat menyebabkan sel-sel germinal yang aktif membentuk spermatogonia di tubulus terhambat sehingga jumlah spermatogonium berkurang (Singh *et al.*, 2008).

Pada hasil pengamatan mikroskopik testis ikan opudi ini juga tidak ditemukan adanya sel spermatozoa yang seharusnya pada bulan Juni ikan dewasa sudah mencapai tingkat kematangan gonad tertinggi atau sudah berada pada TKG III dan TKG IV. Pada TKG III spermatogonia telah berubah menjadi sel spermatid. Jumlah spermatid terus bertambah dan sebagian telah berubah menjadi spermatozoa dewasa dan jumlahnya akan bertambah sedangkan pada TKG IV spermatid sudah berkembang menjadi spermatozoa. Spermatozoa berasal dari spermatid yang telah mengalami diferensiasi melalui proses spermiogenesis. Pada fase matang ukuran menjadi semakin kecil sehingga hanya tampak bagian kepala seperti bintik-bintik kecil (Tresnati, 2010).

Kerusakan-kerusakan yang terjadi pada preparat histopatologi testis ikan opudi ini kemungkinan besar disebabkan karena adanya pencemaran limbah industri berupa logam berat dimana toksisitas logam dapat mempengaruhi proses reproduksi, antara lain, dapat menurunkan pembuahan telur oleh sperma, menurunkan kemampuan kontraksi saluran telur untuk mengeluarkan telur dan menyebabkan kerusakan epitel germinal (Darmono, 1995). Dugaan ini berdasarkan dari hasil pemeriksaan air danau yang telah dilakukan (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji air Danau Malili terhadap kandungan logam

No.	Parameter	Satuan	Hasil Pengujian	Batas Maksimum yang diperbolehkan
1.	Nikel	mg/L	<0.0184	-
2.	Besi	mg/L	0.0238	-
3.	Seng	mg/L	0.0491	0.05
4.	Tembaga	mg/L	<0.0136	0.02

Dari hasil uji air yang telah dilakukan pada perairan Malili diperoleh bahwa pada danau tersebut mengandung nikel sebanyak <0.0184 mg/L, besi sebanyak 0.0238 mg/L, seng sebanyak 0.0491 mg/L dan tembaga sebanyak <0,0136 mg/L. Dari hasil pemeriksaan tersebut, seng dan tembaga sudah hampir memasuki ambang batas maksimum yang diperbolehkan dalam Peraturan Gubernur

SULSEL Nomor 69 Tahun 2010 Tentang Baku Mutu dan Kriteria Kerusakan Lingkungan Hidup Lampiran I Kriteria Mutu Air (Kelas III). Sedangkan untuk Nikel dan Besi tidak diatur dalam peraturan Gubernur SULSEL Nomor 69 Tahun 2010. Namun keduanya merupakan logam berat yang terlarut yang keberadaannya tidak diperbolehkan ada dalam air bersih.

Keracunan logam berat dalam tubuh mempengaruhi banyak jaringan dan organ tubuh, seperti sistem syaraf, sistem ginjal, sistem reproduksi, sistem endokrin, dan jantung (Palar, 1994). Organ reproduksi inilah yang merupakan target akhir dari kerusakan yang disebabkan oleh pencemaran limbah industri berupa logam berat. Apabila kerusakan sudah mencapai organ reproduksi maka dapat disimpulkan bahwa pencemaran limbah industri pada danau Matano sudah sangat tinggi. Menurut Tresnati dan Djawad, (2012), kemampuan adaptasi hewan menjadi semakin lemah apabila konsentrasi cemaran logam meningkat dan terpapar logam berat dalam waktu yang lama. Hal inilah yang menjadi salah satu faktor berkurangnya populasi ikan opudi di perairan Malili.

5. PENUTUP

5.1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan bahwa:

1. Ikan yang tertangkap hanya mencapai TKG II.
2. Hasil pengamatan mikroskopik menunjukkan adanya kerusakan berupa dilatasi intertubulus, lumen tubulus tidak beraturan, hemoraghi, infiltrasi sel radang, adanya sel nekrosis dan kerusakan sel leydig.
3. Dari hasil uji air yang dilakukan diperoleh nikel sebanyak <0.0184 mg/L, besi sebanyak 0.0238 mg/L, seng sebanyak 0.0491 mg/L dan tembaga sebanyak $<0,0136$ mg/L.
4. Terhambatnya proses reproduksi dan kerusakan-kerusakan pada preparat histologi ikan opudi ini kemungkinan disebabkan karena adanya pencemaran limbah industri berupa logam berat.

5.2. Saran

Diperlukan perhatian khusus terhadap ikan opudi ini yang semakin hari populasinya semakin menurun dan perlu segera dilakukan pembudidayaan ikan opudi untuk membantu keberlangsungan spesies ini agar tetap terjaga kelestariannya di danau Matano. Diperlukan pula penelitian lebih lanjut dengan menggunakan pewarnaan yang lebih spesifik serta pengujian logam-logam berat yang terkandung didalam ikan itu sendiri.

DAFTAR PUSTAKA

- Bizzott, P.M dan H.P. Godinho. 2007. "Morphometric evaluation of the spermatogenesis in trahira *Hoplias malabaricus* (Bloch) (Characiformes, Erythrinidae)". *Revista Brasileira de Zoologia* 24 (3): 541-544.
- Casadevall, M., E. Delgado, O. Colleye, S.B. Monserrat dan E. Parmentier. 2009. "Histological Study of the Sex-Change in the Skunk Clownfish *Amphiprion akallopisos*". *The Open Fish Science Journal* 2: 55-58.
- Chinabut, S., C. Limsuwan dan P. Kitsawat. 1991. *Histology of the walking catfish, Clarias batrachus*. IDRC. Bangkok.
- Darmono. 1995. *Logam Dalam Sistem Biologi Makhluk Hidup*. Universitas Indonesia (UI-Press). Jakarta.
- Djuwita, I., A. Boediono dan K. Mohamad. 2000. *Bahan Kuliah Embriologi*. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Dong, Q. 2004. "Leydig Cell Function In Man". *Male Hypogonadism* 10: 23-43.
- Efendi, Y. 2011. *Serial Biologi Perikanan : Sistem Organ Ikan*. Ebook. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Bung Hatta. Padang.
- Effendie, M.I. 1979. *Metode Biologi Perikanan*. Yayasan Dewi Sri. Bogor.
- Effendie, M.I. 1997. *Biologi perikanan*. Yayasan Pustaka Nusatama. Yogyakarta.
- Eragradhini, A.R. 2014. *Biologi Reproduksi Ikan Bungo (*Glossogobius giurus*, Hamilton-Buchanan 1822) di Danau Tempe, Sulawesi Selatan*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Furkon, A. 2003. *Kebiasaan Makanan dan Pertumbuhan Ikan Opudi *Telmatherina celebensis* di Danau Towuti Sulawesi selatan*. Tesis. Program Studi Manajemen Sumberdaya Perairan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Giardino, Claudia, P. Monica, A.B. Pietro, G. Paolo dan Z. Eugenio. 2001. "Detecting chlorophyll, Secchi disk depth and surface temperature in a sub-alpine lake using Landsat imagery". *The Science of The Total Environment* 268 (1-3): 19-29.
- Ginanjari, M. 2006. *Kajian Reproduksi Ikan Lemuru (*Sardinella lemuru* blk.) Berdasarkan Perkembangan Gonad dan Ukuran Ikan dalam Penentuan Musim Pemijahan di Perairan Pantai Timur Pulau Siberut*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Haffner, G.D., P.E. Hehanussa dan D.I. Hartoto. 2001. *The biology and physical processes of large lakes of Indonesia: Lakes Matano and Towuti*, p 183-192. In M. Munawar & R.E. Hecky (Eds.). *The Great Lakes of the World (GLOW): Food-Web, Health and Integrity*. Netherlands.

- Hamal, R. 2006. *Studi Morfometrik, Meristik dan Variasi Genetik Ikan Butini (Glossogobius matanensis Webwe, 1913) Di Danau Matano, Danau Mahalona dan Danau Towuti*. Tesis. Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Harder. 1975. *Anatomy of Fish*. Schweizertbartsche Verlagsbuchhandlung Stuttgart.
- Hadiaty, R.K. dan S. Wirjoatmodjo. 2002. “Studi Pendahuluan Biodiversitas dan Distribusi Ikan di Danau Matano, Sulawesi Selatan”. *Jurnal Iktiologi Indonesia* 2 (2).
- Herder, F., J. Nolte, J. Pfaender, J. Schwarzer, R.K. Hadiaty dan U.K. Schliewen. 2006. “Adaptive Radiation And Hybridization In Wallace’s Dreamponds: Evidence From Sailfin Silversides In The Malili Lakes Of Sulawesi”. *Proceedings of the Royal Society* 273: 2209–2217.
- Hidayat, R. 2008. *Gambaran Histologis Testis Muda dan Dewasa pada Ikan Mas Cyprinus carpio.L*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Hoar, W.S. 1983. *General and Comparative Physiology, 3rd ed*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Hoar, W.S. dan D.J. Randall. 1969. *Reproduction and Growth Fish Physiology Volume III*. Academic Press. New York.
- Huang, J.D., M.F. Lee dan C.F. Chang, 2002. The Morphology of Gonadal Tissue and Male Germ Cells in the Protandrous Black Porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *Zoological Studies* 41 (2): 216-227.
- Hutchinson, G.E. 1957. *A treatise on limnology Volume I*. Geography, physics and chemistry. Wiley & Sons Inc. New York.
- Jayadi, R. Hamal dan Arifuddin. 2010. “Reproduksi Ikan Endemik Rainbow Sulawesi *Telmatherina celebensis* di Danau Matano Sulawesi Selatan”. *Torani (Jurnal Ilmu Kelautan dan Perikanan)* 20 (1).
- Junqueira, L.C. 2007. *Persiapan jaringan untuk pemeriksaan mikroskopik*. Histology Dasar: teks dan atlas Edisi 10. EGC. Jakarta.
- Khaisar, O. 2006. *Kandungan Timah Hitam (Pb) dan Kadmium (Cd) dalam Air, Sedimen dan Bioakumulasi Serta Respon Histopatologis Organ Ikan Alu-alu (Sphyraena barracuda) di Perairan Teluk Jakarta*. Skripsi. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kottelat, M., A.J. Whitten, N. Kartikasari dan S. Wirjoatmodjo. 1993. *Fresh water fishes of Western Indonesia and Sulawesi*. Periplus Edition LTD. Hongkong.

- Mahmoud, H.H. 2009. "Gonadal Maturation and Histological Observations of *Epinephelus areolatus* and *Lethrinus nebulosus* in Halaieb/Shalatien Area "Red Sea", Egypt". *Global Veterina* 3 (5): 414-423.
- Nasution, S.H. 2004. *Distribusi dan Perkembangan Gonad Ikan Endemik Rainbow Selebensis (Telmatherina celebensis Boulenger) di Danau Towuti Sulawesi Selatan*. Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Nasution, S.H., Sulistiono, D.S. Sjafei dan G.S. Haryani. 2004. "Variasi Morfologi Ikan Endemik Rainbow Selebensis (*Telmatherina celebensis* Boulenger) di Danau Towuti, Sulawesi Selatan". *Jurnal Akuakultur Indonesia* 3 (2): 5-11.
- Nelson, J.S. 1984. *Fishes of the World*. Departement of Zoology University of Alberta. Edmonton.
- Nelson, J.S. 1994. *Fishes of the World 3rd edition*. John Wiley & Soon, Inc. New York.
- Nomosatryo, S., C. Henny, C.A. Jones, C. Michiels dan S.A. Crowe. 2013. *Karakteristik dan Klasifikasi Trofik di Danau Matano dan Danau Towuti Sulawesi Selatan*. Prosiding Pertemuan Ilmiah Tahunan MLI I. Cibinong.
- Ogawa, T., J.M. Arechaga, M.R. Avarbock dan R.L. Brinster. 1997. "Transplantation of Testis Germinal Cells In To Mouse Seminiferous Tubules". *The International Journal of Developmental Biology* 41: 111-122.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. PT Rineka Cipta. Jakarta.
- Park, L.K. dan P. Morgan. 1995. *Developments in molecular genetic techniques in fisheries*. In *Molecular Genetics in Fisheries* by Carvalho, G.R. and Pitcher, T.J. (Eds.) Chapman & Hall. London.
- Pergiwa, S.G. 2003. *Gambaran Morfologi Tahapan Spermatogenesis Pada Kucing Lokal Felis catus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Hewan Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Redding, J.M. dan R. Patino. 1993. *Reproductive Physiology*. In *The Physiology of Fisher*. Eds David H. Evand, CRC Press. USA.
- Roy, D., M.F. Docker, P. Hehanussa, D.D. Heath dan G.D. Haffner. 2004. "Genetic And Morphological Data Supporting The Hypothesis Of Adaptive Radiation In The Endemic Fish Of Lake Matano". *Journal of Evolutionary Biology* 17: 1268–1276.
- Shukla, A. dan J.P. Shukla. 2013. "Testicular Cycle of *Colisa fasciatus* (Bl. And Schn.) under Hexavalent Chromium Stress". *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 4 (1): 5-9.

- Singh P.B., V. Singh dan P.K. Nayak. 2008. "Pesticide residues and reproductive dysfunction in different vertebrates from north India". *Food Chem Toxicol* 46 (7): 2533-2539.
- Sorensen, E.M. 1991. *Metal poisoning in fish*. CRC Press Inc. Florida.
- Sulistiono., T.H. Kurniati., E. Riani dan S. Watanabe. 2001. "Kematangan Gonad Beberapa Jenis Ikan Buntal (*Tetraodon lunaris*, *T. Fluviatilis*, *T. Reticularis*) di Perairan Ujung Pangkah, Jawa Timur". *Jurnal Iktiologi Indonesia* 1(2): 25-30.
- Suntoro, S.H. 1983. *Metode Perwarnaan (Histologi dan Histokimia)*. Bhratara Karya Aksara. Jakarta.
- Takashima, F. dan T. Hibiya. 1995. *Gonad*. In: an Atlas of Fish Histology Normal and Pathological Features. 2nd Edited by Fumio Takhasima and T. Hibiya Kodansu LTD. Tokyo.
- Tang, U. M. dan R. Affandi. 2004. *Biologi Reproduksi Ikan*. Unri Press. Riau.
- Tresnati, J. 2010. *Kajian Reproduksi Ikan Bete (*Leiognathus equulus*, Forsskal 1775) di Danau Tempe, Kabupaten Wajo, Propinsi Sulawesi Selatan*. Tesis. Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Tresnati, J. dan I. Djawad. 2012. "Effect of Lead on Gill and Liver of Blue Spotted Ray (*Dasyatis kuhlii*)". *Journal of Cell and Animal Biology* 6 (17): 250-256.
- Tresnati, J. dan D.D. Trijuno. 2014. *Kerusakan Jaringan Gonad Ikan Pari Kembang (*Dasyatis kuhlii*) Akibat Terpapar Logam Berat Merkuri (Hg)*. Tesis. Jurusan Perikanan Fakultas Ilmu Kelautan dan Perikanan Universitas Hasanuddin. Makassar.
- Von Rintelen, T. dan M. Glaubrecht. 2003. "New Discoveries In Old Lakes: Three New Species Of *Tylomelania* Sarasin & Sarasin, 1897 (Gastropoda: Cerithioidea: Pachychilidae) From The Malili Lake System On Sulawesi, Indonesia". *Journal of Molluscan Studies* 69: 3-17.
- Wargasmita, S. 2000. *Keanekaragaman Jenis Ikan dalam Ekosistem Danau dan Situ di Indonesia*. Prosiding. Seminar Nasional Keanekaragaman Hayati Ikan. Pusat Studi Ilmu Hayati Institut Pertanian Bogor. Bogor.

LAMPIRAN

LAMPIRAN I

Histoteknik

1. Persiapan

Sebelum jaringan tubuh diambil beberapa persiapan perlu dilakukan yang terdiri atas :

1. Persiapan alat dan bahan/cairan
Perangkat peralatan yang harus dipersiapkan untuk melakukan isolasi atau pengambilan jaringan tubuh terdiri atas peralatan bedah minor (gunting, pinset, scalpel, klem, pemegang jaringan, kassa, dll), meja operasi, lampu, peralatan anestesi (disposable syringe, sungkup/masker anestesi) dan obat anestesi (eter, ketalar, phenobarbital dll) serta perangkat pengawetan jaringan (fiksasi jaringan) seperti wadah untuk fiksasi emersi, cairan fiksasi (Formol salin, Muller, Bouin, Zenker dll), peristaltik pump/syringe pump untuk fiksasi supravital dan lain-lain.
2. Persiapan sampel
Untuk jaringan yang diambil dari kadaver, jaringan segera diambil dan dimasukkan kedalam cairan fiksasi. Pada penelitian ini jaringan diambil dari cadaver yang sudah disimpan dalam formalin p.a 10%

2. Pelaksanaan

Untuk jaringan yang berasal dari kadaver dan dari jaringan operasi, jaringan yang telah diambil langsung dimasukkan kedalam wadah yang berisi cairan fiksasi.

Fiksasi (Fixation)

Dasar dari pembuatan sajian histologi yang baik adalah melakukan fiksasi yang benar. Kesalahan yang dilakukan pada tahap fiksasi tidak akan pernah dapat diperbaiki lagi pada tahapan selanjutnya. Jadi hasil akhir sajian histologi yang baik sangat tergantung pada cara melakukan fiksasi dengan baik.

Tujuan dari fiksasi adalah untuk:

1. Mengawetkan jaringan.
Fiksasi bertujuan untuk mempertahankan susunan jaringan agar mendekati kondisi seperti sewaktu hidup.
2. Mengeraskan jaringan
Fiksasi bertujuan untuk mengeraskan jaringan terutama jaringan lunak agar memudahkan pembuatan irisan tipis.

Dalam melakukan fiksasi dibutuhkan larutan pengawet, pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan larutan formalin. Larutan formalin merupakan cairan fiksasi yang paling umum digunakan. Larutan formalin yang digunakan adalah formalin 10%. Formula yang digunakan adalah formalin (40% formaldehida) sebanyak 10 ml dan air sebanyak 90 ml

Formalin terutama terdapat dalam bentuk polimer dari formaldehida. Bentuk ini tak dapat digunakan untuk fiksasi. Yang dapat digunakan adalah bentuk monomernya. Untuk menghasilkan formalin dalam bentuk monomer

diperlukan waktu, kecuali bila pH larutan netral atau sedikit alkalis, karena kecepatan depolarisasi tergantung pada pH. Jadi jangan sekali-kali menggunakan formalin 10% yang baru dibuat karena jaringannya keburu membusuk sebelum terfiksasi dengan baik. Selain itu formalin bersifat asam karena mengandung asam formiat akibat oksidasi formaldehida.

Cairan fiksatif formalin akan mengawetkan struktur halus (fine structure) dengan sangat baik, phospholipid dan beberapa enzim. Cairan ini sangat dianjurkan untuk dipakai pada penelitian gabungan secara sitokimia dan mikroskop elektron. Untuk mendapatkan hasil yang terbaik jaringan harus didinginkan sampai 4 derajat Celsius dalam refrigerator.

Dehidrasi

Dehidrasi merupakan langkah ke dua dalam pemerosesan jaringan. Proses ini bertujuan untuk mengeluarkan seluruh cairan yang terdapat dalam jaringan yang telah difiksasi sehingga jaringan nantinya dapat diisi dengan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Hal ini perlu dilakukan karena air tidak dapat bercampur dengan cairan parafin atau zat lainnya yang dipakai untuk membuat blok preparat. Ada beberapa macam cairan yang dapat dipakai untuk proses dehidrasi dan pada penelitian ini menggunakan cairan alkohol dengan metode bertahap menggunakan alkohol dengan konsentrasi yang makin meningkat secara lebih perlahan yaitu :

1. alkohol 70% yang direndam selama 1 hari
2. alkohol 80% yang direndam selama 1 hari
3. alkohol 90% yang direndam selama 1 hari
4. alkohol 95% yang direndam selama 1 hari
5. alkohol 95% yang direndam selama 1 hari
6. alkohol 100% yang direndam selama 1 hari
7. alkohol 100% yang direndam selama 1 hari

Alkohol yang sudah dipakai dapat dimurnikan dengan cara memasukkan cuprisulfat (CuSO_4) kedalamnya. Cuprisulfat yang berwarna putih (tak mengandung air) akan berubah menjadi biru (mengandung air). Ganti cuprisulfat beberapa kali hingga warnanya tetap putih walaupun telah disimpan beberapa hari. Cuprisulfat yang telah berwarna biru karena mengandung air dapat dihilangkan airnya dengan cara dipanaskan.

Clearing

Pembeningan adalah suatu tahap untuk mengeluarkan alkohol dari jaringan dan menggantinya dengan suatu larutan yang dapat berikatan dengan parafin. Jaringan tidak dapat langsung dimasukkan ke dalam parafin karena alkohol dan parafin tidak bisa saling melarutkan. Proses mengeluarkan alkohol dari jaringan ini sangat krusial karena bila di dalam jaringan masih tertinggal sedikit alkohol maka parafin tidak bisa masuk ke dalam jaringan sehingga jaringan menjadi “ matang diluar, mentah di dalam” dan akan menyebabkan jaringan menjadi sulit untuk dipotong dengan mikrotom. Bahan atau reagen pembening yang paling sering dipakai adalah sebagai berikut:

1. chloroform
2. benzene/benzol

3. xylene/xylol
4. cedar wood oil
5. benzil benzoat
6. methyl benzoat

Pembenaman (Embedding/Impregnasi)

Pembenaman (impregnasi) adalah proses untuk mengeluarkan cairan pembening (clearing agent) dari jaringan dan diganti dengan parafin. Pada tahap ini jaringan harus benar-benar bebas dari cairan pembening karena sisa cairan pembening dapat mengkristal dan sewaktu dipotong dengan mikrotom akan menyebabkan jaringan menjadi mudah robek.

Zat pembenam (impregnasi agent) yang dipakai adalah :

1. Paraffin cair panas yang mempunyai temperatur lebur (Melting temperature) kira-kira 56-59 C
2. Parafin histotek khusus (Tissue mat) dengan suhu 56C
3. Paraplast yaitu campuran parafin murni dengan beberapa polimer plastik.

Keuntungan memakai parafin dengan titik lebur rendah adalah jaringan tidak mudah menjadi rapuh/garing. Parafin dengan titik lebur rendah biasanya dipakai untuk jaringan embrional. Keuntungan memakai paraplast adalah sifat parafinnya lebih elastis sehingga tidak mudah sobek ketika dipotong dengan mikrotom dan dapat dipotong lebih mudah.

Proses pembedaman sebagai berikut:

1. jaringan dbedamkan ke dalam parafin/paraplast I selama 2 jam
2. jaringan kemudian dipindahkan kedalam parafin/paraplast II selama 1 jam
3. akhirnya jaringan dimasukkan kedalam parafin/paraplast III selama 2 jam.
4. setelah pembedaman proses dapat dilanjutkan dengan pengecoran/bloking

Blocking

Pengecoran (Blocking) adalah proses pembuatan blok preparat agar dapat dipotong dengan mikrotom. Untuk membuat blok preparat dapat digunakan 2 macam cara yaitu :

1. Cara lama yaitu dengan menggunakan potongan besi berbentuk L (Leuckhart)
2 buah potongan besi disusun diatas lembaran logam hingga rapat dan membentuk ruang seperti kubus. Tuangkan sedikit parafin cair di bagian pinggir tempat pertemuan potongan besi agar tak bocor. Jaringan kemudian dimasukkan ke dalam ruangan kubus. Selanjutnya parafin dituangkan kedalam ruangan kubus tersebut. Hal yang harus dicegah adalah jangan sampai gelembung udara mengisi kedalam blok parafin tersebut.
2. Cara baru yaitu dengan menggunakan cetakan dari plastik dan piringan logam

Dengan cara ini histoplate dari plastik diletakkan di atas piringan logam (seperti cetakan membuat es batu). Tuangkan sedikit cairan parafin ke dalam cetakan tersebut. Secepatnya masukkan jaringan dengan menggunakan pinset yang telah dipanaskan (agar parafin tak beku) dan diatur posisinya di dalam cetakan. Parafin cair kemudian dituangkan

kembali hingga menutupi seluruh cetakan tersebut. Selama tindakan ini cetakan (histoplate dari plastik) dan piringan logam harus diletakkan diatas hot plate.

Pemotongan (Sectioning)

Pemotongan (mounting) adalah proses pemotongan blok preparat dengan menggunakan mikrotom. Sebelum melakukan pemotongan dilakukan serangkaian persiapan yang harus dilakukan:

1. Persiapan pisau mikrotom
Pisau mikrotom harus diasah sebelum dipakai agar jaringan dapat dipotong dengan baik dan tidak koyak sehingga didapatkan jaringan yang baik. Pisau mikrotom kemudian diletakkan pada tempatnya di mikrotom dengan sudut tertentu.
Rekatkan blok parafin pada holder dengan menggunakan spatula atau scalpel. Letakkan tempat duduk blok parafin beserta blok preparat pada tempatnya pada mikrotom.
2. Persiapan Kaca Objek
Kaca objek yang akan direkatkan preparat harus telah dicoated (disalut) dengan zat perekat seperti albumin (putih telur), gelatin atau tespa.
3. Persiapan Waterbath atau wadah berisi air hangat dengan temperatur 37-40°C
4. Persiapan sengkeli atau kuas

Teknik pemotongan parafin yang mengandung preparat adalah sebagai berikut:

1. Rekatkan blok parafin yang mengandung preparat pada tempat duduknya di mikrotom. Tempat duduk blok parafin beserta blok parafinnya kemudian diletakkan pada pemegangnya (holder) pada mikrotom dan dikunci dengan kuat.
2. Letak pisau mikrotom pada tempatnya dan atur sudut kemiringannya. Biasanya sudut kemiringan berkisar 20-30 derajat.
3. Atur ketebalan potongan yang diinginkan, biasanya dipakai ketebalan antara 5-7 mikrometer
4. gerakkan blok preparat ke arah pisau sedekat mungkin dan potonglah blok preparat secara teratur dan ritmis. Buang pita-pita parafin yang awal tanpa jaringan hingga kita mendapatkan potongan yang mengandung preparat jaringan
5. Pita parafin yang mengandung jaringan lalu dipindahkan secara hati-hati menggunakan sengkeli atau kuas kedalam waterbath yang temperaturnya diatur 37-40C dan biarkan beberapa saat hingga pita parafin tersebut mengembang.
6. Setelah pita parafin terkembang dengan baik, tempelkan pita parafin tersebut pada kaca objek yang telah dicoated dengan cara memasukkan kaca objek itu kedalam waterbath dan menggerakannya ke arah pita parafin. Dengan menggunakan sengkeli atau kuas pita parafin ditempelkan pada kaca objek. Setelah melekat kaca objek digerakkan keluar dari waterbath dengan hati-hati agar pita parafin tidak melipat.
7. Letakkan kaca objek yang berisi pita parafin di atas hotplate dengan temperatur 40-45C, biarkan selama beberapa jam. Cara lainnya adalah

dengan melewati kaca objek di atas api sehingga pita parafin melekat erat di atas kaca objek.

8. Setelah air kering dan pita parafin telah melekat dengan kuat, simpan kaca objek berisi potongan parafin dan jaringan sampai saatnya untuk diwarnai.

Pewarnaan (Staining)

Pewarnaan adalah proses pemberian warna pada jaringan yang telah dipotong sehingga unsur jaringan menjadi kontras dan dapat dikenali / diamati dengan mikroskop. Proses timbulnya warna terkait dengan terjadinya ikatan antara molekul tertentu yang terdapat pada daerah dan struktur jaringan yang tertentu. Sinar dengan panjang gelombang tertentu yang terdapat dalam sinar yang berasal dari cahaya matahari atau lampu mikroskop yang dipaparkan pada sajian yang telah diwarnai akan diabsorpsi (diserap) atau diteruskan. Zat warna yang terikat pada jaringan akan menyerap sinar dengan panjang gelombang tertentu sehingga jaringan tersebut akan tampak berwarna.

Pelarut yang umum dipakai dalam proses pewarnaan adalah air dengan derajat keasaman yang netral (pH 7). Disamping itu juga dapat digunakan cairan pelarut lainnya seperti etilalkohol (etanol) dengan derajat konsentrasi yang bervariasi. Bila tidak ada keterangan dalam proses pelarutan yang menggunakan alkohol berarti konsentrasi alkohol yang digunakan adalah alkohol absolut dengan konsentrasi 99.9%.

Pulasan (pewarna) yang sering digunakan secara rutin adalah pewarnaan yang dapat digunakan untuk memulas inti dan sitoplasma serta jaringan penyambungannya yaitu pulasan hematoksilin-eosin (HE). Pada pulasan HE digunakan 2 macam zat warna yaitu hematoksilin yang berfungsi untuk memulas inti sel dan memberikan warna biru (basofilik) serta eosin yang merupakan counterstaining hematoksilin, digunakan untuk memulas sitoplasma sel dan jaringan penyambung dan memberikan warna merah muda dengan nuansa yang berbeda.

Hematoksilin merupakan zat warna alami yang pertama kali dipakai tahun 1863. Hematoksilin akan mengikat inti sel secara lemah, kecuali bila ditambahkan senyawaan lainnya seperti aluminium, besi, krom dan tembaga. Senyawaan hematoksilin yang dipakai adalah bentuk oksidasinya yaitu hematein. Proses oksidasi senyawaan hematoksilin ini dikenal sebagai Ripening dan dapat dipercepat prosesnya dengan menambahkan senyawaan yang bertindak sebagai oksidator seperti merkuri oksida, hidrogen peroksida, potasium permanganat dan sodium iodat.

Selama proses oksidasi berlangsung kemampuan hematoksilin untuk mewarnai inti sel akan terus berlangsung dan akan berkurang bila proses oksidasi telah selesai. Untuk memperpanjang proses ini larutan hematoksilin dapat disimpan dalam wadah tertutup dan disimpan dalam ruangan gelap. Dalam kondisi terpapar oleh cahaya sebaiknya larutan diganti sekurang-kurangnya seminggu sekali. Jenis hematoksilin yang sering dipakai adalah Mayer, Delafied, Erlich, Bullard dan Bohmer, sedangkan counterstaining yang dipakai adalah eosin, safranin, dan phloxine.

Pada percobaan ini pewarnaan yang dipakai adalah pewarnaan Mayer hematoksilin-eosin. Pewarnaan ini banyak dipakai dengan beberapa pertimbangan:

1. Differensiasi warna sangat jelas
2. Mewarnai inti sel dengan baik dan jelas dengan background yang tidak bewarna
3. Hasil konsisten
4. Prosedurnya sederhana
5. Dapat mewarnai preparat yang difiksasi dengan fiksasi apapun juga

Prosedur yang dipakai adalah sebagai berikut:

- a. Deparafinisasi dengan xylol (2x2 min)
- b. Hidrasi dengan serial Alkohol 100% (2x2 min) – 95% (2min) – 90% (2 min) – 80% (2 min) - 70% (2min) – Distilled water (3min)
- c. Inkubasi dalam larutan hematoksilin Mayers selama 15 min
- d. Cuci dalam air mengalir selama 15-20menit
- e. Observasi di bawah mikroskop, bila masih terlalu biru cuci lagi di air mengalir selama beberapa menit. Bila sudah cukup warnanya lanjutkan ke langkah selanjutnya
- f. Counterstaining dalam larutan Eosin working solution selama 15 detik hingga 2 menit tergantung pada umur eosin dan kedalaman warna yang diinginkan
- g. Dehidrasi dalam serial alkohol dengan gradasi meningkat perlahan mulai 70% hingga 100% masing-masing 2 menit.
- h. Jernihkan dan dealkoholisasi dalam xylol 2x2min
- i. Tutup dengan balsem kanada atau entelan

Hasil/ Interpretasi adalah:

- Inti sel bewarna biru
- Sitoplasma bewarna kemerahan dengan adanya beberapa variasi warna pada komponen tertentu

LAMPIRAN II

Hasil Pemeriksaan Air Danau



KEMENTERIAN KESEHATAN RI
DIREKTORAT JENDERAL PENGENDALIAN PENYAKIT
DAN PENYEHATAN LINGKUNGAN
BALAI TEKNIK KESEHATAN LINGKUNGAN DAN PENGENDALIAN
PENYAKIT KELAS I MAKASSAR
Jalan Wijaya Kusuma Raya No. 29 - 31 Makassar, Telp/Fax : 0411-871620

LAPORAN HASIL UJI

Nomor LHU : 084/ LHU / BTKL-MKS /VI/2015
Nama Pelanggan : Nurul Sulfi Andini
Alamat : BTN Asal Mula Blok E 10/1, Jl. Perintis Kemerdekaan 3, Makassar
Tlp/Fax : -
Petugas Sampling : Customer
Jenis Sampel/Metode Sampling : Air Badan Air / Sesaat
Lokasi/Titik Sampling : Danau Matano Kab. Luwu Timur
Tanggal Sampling : 19 Juni 2015
No.FPPS : 084/FPPS/BTKL-MKS/VI/2015
No.Sampel : 084/ABA-K/VI/2015
Tanggal Penerimaan : 24 Juni 2015
Tanggal Pengujian : 24 s/d 25 Juni 2015
Hasil Pengujian :

No.	Parameter	Satuan	Hasil Pengujian	Batas Maksimum * Yang Diperbolehkan	Spesifikasi Metode
A.	Kimia				
1	Nikel (Ni)	mg/L	<0,0184	(-)	IKM/5.4.23/BTKL-MKS (ICP)
2	Besi (Fe)	mg/L	0,0238	(-)	IKM/5.4.5/BTKL-MKS (ICP)
3	Seng (Zn)	mg/L	0,0491	0,05	IKM/5.4.9/BTKL-MKS (ICP)
4	Tembaga (Cu)	mg/L	<0,0136	0,02	IKM/5.4.8/BTKL-MKS (ICP)

Keterangan :

* : Berdasarkan Peraturan Gubernur SULSEL Nomor 69 Tahun 2010 Tentang Baku Mutu dan Kriteria Kerusakan Lingkungan Hidup Lampiran I Kriteria Mutu Air (Kelas III)

(-) : Tidak Diatur dalam Peraturan Gubernur SULSEL Nomor 69 Tahun 2010

Logam Berat Merupakan Logam Terlarut

Catatan:

1. Hasil uji di atas hanya berlaku untuk sampel yang diuji.
2. Laporan Hasil Uji ini terdiri dari 1 (satu) halaman.
3. Laporan Hasil Uji ini tidak boleh digandakan, kecuali secara lengkap dan sejinis tertulis dari BTKLPP Kelas I Makassar.
4. Laboratorium melayani pengaduan/complaint maksimum 1 (satu) bulan terhitung dari tanggal penerimaan sampel.
5. Laboratorium Pengujian BTKLPP Kelas I Makassar hanya bertanggung jawab terhadap pengujian jika pengambilan sampel dilakukan sendiri oleh pelanggan

F/5.10.4/BTKL-MKS



LAMPIRAN III
PERATURAN PEMERINTAH REPUBLIK INDONESIA
NOMOR 82 TAHUN 2001
TENTANG
PENGELOLAAN KUALITAS AIR DAN PENGENDALIAN
PENCEMARAN AIR
PRESIDEN REPUBLIK INDONESIA

Menimbang : a. bahwa air merupakan salah satu sumber daya alam yang memiliki fungsi sangat penting bagi kehidupan dan perikehidupan manusia, serta untuk memajukan kesejahteraan umum, sehingga merupakan modal dasar dan faktor utama pembangunan;

b. bahwa air merupakan komponen lingkungan hidup yang penting bagi kelangsungan hidup dan kehidupan manusia dan makhluk hidup lainnya;

c. bahwa untuk melestarikan fungsi air perlu dilakukan pengelolaan kualitas air dan pengendalian pencemaran air secara bijaksana dengan memperhatikan kepentingan generasi sekarang dan mendatang serta keseimbangan ekologis;

d. bahwa berdasarkan pertimbangan sebagaimana dimaksud dalam huruf a, huruf b, dan huruf c serta untuk melaksanakan ketentuan Pasal 14 ayat (2) Undang-undang Nomor 23 Tahun 1997 tentang Pengelolaan Lingkungan Hidup, perlu menetapkan Peraturan Pemerintah tentang Pengelolaan Kualitas Air dan Pengendalian Pencemaran Air;

Mengingat : 1. Pasal 5 ayat (2) Undang-Undang Dasar 1945 sebagaimana telah diubah dengan Perubahan Ketiga Undang-Undang Dasar 1945;

2. Undang-undang Nomor 11 Tahun 1974 tentang Pengairan (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1974 Nomor 65, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3046);

3. Undang-undang Nomor 23 Tahun 1997 tentang Pengelolaan Lingkungan Hidup (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1997 Nomor 68, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3699);

4. Undang-undang Nomor 22 Tahun 1999 tentang Pemerintahan Daerah (Lembaran Negara Republik Indonesia Tahun 1999 Nomor 60, Tambahan Lembaran Negara Nomor 3839);

MEMUTUSKAN :

Menetapkan : **PERATURAN PEMERINTAH TENTANG PENGELOLAAN KUALITAS AIR DAN PENGENDALIAN PENCEMARAN AIR.**

BAB II PENGELOLAAN KUALITAS AIR

Bagian Ketiga Klasifikasi dan Kriteria Mutu Air

Pasal 8

- (1) Klasifikasi mutu air ditetapkan menjadi 4 (empat) kelas :
 - a. Kelas satu, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk air baku air minum, dan atau peruntukan lain yang memper-syaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut;
 - b. Kelas dua, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk prasarana/sarana rekreasi air, pembudidayaan ikan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut;
 - c. Kelas tiga, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk pembudidayaan ikan air tawar, peternakan, air untuk mengairi pertanian, dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut;
 - d. Kelas empat, air yang peruntukannya dapat digunakan untuk mengairi pertanian dan atau peruntukan lain yang mempersyaratkan mutu air yang sama dengan kegunaan tersebut.
- (2) Kriteria mutu air dari setiap kelas air sebagaimana dimaksud dalam ayat (1) tercantum dalam Lampiran Peraturan Pemerintah ini.

Pasal 9

- (1) Penetapan kelas air sebagaimana dimaksud dalam Pasal 8 pada :
 - a. sumber air yang berada dalam dua atau lebih wilayah Propinsi dan atau merupakan lintas batas wilayah negara ditetapkan dengan Keputusan Presiden.
 - b. sumber air yang berada dalam dua atau lebih wilayah Kabupaten/Kota dapat diatur dengan Peraturan Daerah Propinsi.
 - c. sumber air yang berada dalam wilayah Kabupaten/Kota ditetapkan dengan Peraturan Daerah Kabupaten/Kota .
- (2) Penetapan kelas air sebagaimana dimaksud dalam ayat (1) diajukan berdasarkan pada hasil pengkajian yang dilakukan oleh Pemerintah, Pemerintah Propinsi, dan atau Pemerintah Kabupaten/Kota berdasarkan wewenangnya sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.
- (3) Pemerintah dapat menugaskan Pemerintah Propinsi yang bersangkutan untuk melakukan pengkajian sebagaimana dimaksud dalam ayat (1) huruf a.
- (4) Pedoman pengkajian untuk menetapkan kelas air sebagaimana dimaksud dalam ayat (2) ditetapkan oleh Menteri.

LAMPIRAN IV
Dokumentasi



Gambar 1. Danau Matano



Gambar 2. Pengukuran ikan opudi



Gambar 3. Nekropsi



Gambar 4. Fiksasi, dehidrasi, clearing



Gambar 5. Pembenaman (Embedding)



Gambar 6. Blocking

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Belopa, Luwu, Sulawesi Selatan pada tanggal 26 Februari 1993 sebagai anak ke dua dari tiga bersaudara, dari ayah bernama Yakub, dan ibu bernama Minah. Pendidikan Taman Kanak-kanak penulis selesaikan di TK Pertiwi pada tahun 1999 dan pendidikan Dasar di SDN 274 Mattirowalie pada tahun 2005. Tahun 2008 lulus dari MTsN Model Palopo dan menyelesaikan pendidikan menengah atas di SMAN 3 Palopo pada tahun 2011. Pendidikan di Universitas Hasanuddin Makassar penulis tempuh sejak tahun 2011 melalui jalur SNPTN dengan memilih Program Studi Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Selama mengikuti pendidikan penulis pernah aktif dalam keanggotaan Himpunan Mahasiswa Kedokteran Hewan Unhas (Himakaha) (2013-2014) dan menjabat sebagai bendahara himpunan. Penulis juga aktif dalam berbagai kegiatan yang diselenggarakan oleh Ikatan Mahasiswa Kedokteran Hewan Indonesia (IMAKAHI). Untuk menambah wawasan tentang dunia kedokteran hewan penulis sering mengikuti kegiatan seminar baik yang bertaraf Nasional maupun Internasional dan pernah magang di beberapa tempat, seperti PT. Bulls, Karantina Pertanian Kelas I Pare-pare, Karantina Pertanian Kelas II Kendari, dan BIB Lembang Bandung. Penulis melaksanakan tugas akhir dengan judul penelitian **“Gambaran Histopatologi Testis Ikan Opudi (*Telmatherina celebensis*) di Danau Matano Luwu Timur Sulawesi Selatan yang Tercemar Logam Berat Nikel (Ni) dan Besi (Fe)”**.